



Avaliação da dinâmica da comunidade microfitobentônica do rio Sousa

Uirá Siqueira de Oliveira

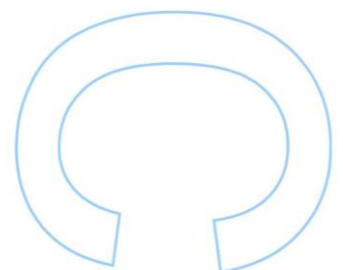
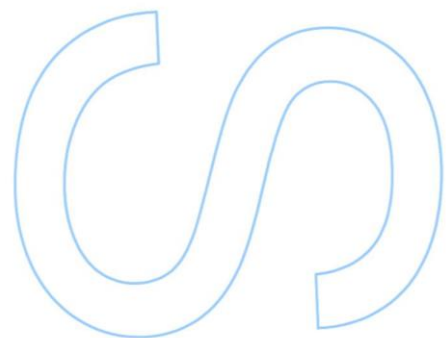
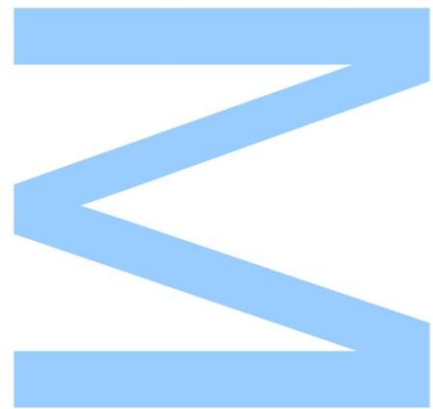
Mestrado em Biologia e Gestão da Qualidade da Água
Departamento de Biologia
2017

Orientador

Maria da Natividade Ribeiro Vieira, Professora Associada, Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Coorientador

Nuno Eduardo Malheiro Magalhães Esteves Formigo, Professor Auxiliar, Departamento de Biologia da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

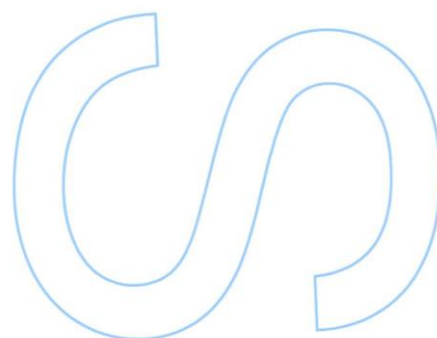
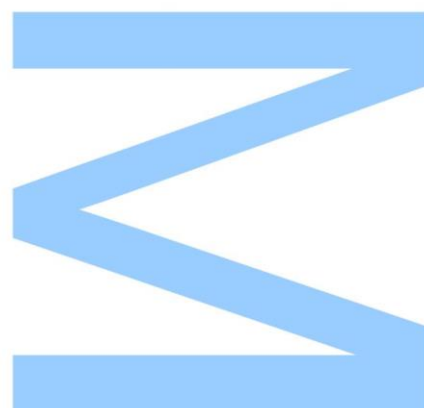




Todas as correções determinadas pelo júri, e só essas, foram efetuadas.

O Presidente do Júri,

Porto, ____/____/____



Agradecimentos

A minha mãe e amiga, que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, apoiando e incentivando sempre, com sua força de Mulher Viuva e com dois filhos. Sua garra, força e leveza me fazem tê-la como um grande exemplo. So nos sabemos que foram dois anos difíceis e que seu apoio foi essencial para a realização desse sonho e conclusão de mais um grande objetivo. Por mais difícil que a situação seja, enfrentamos e enfrentaremos todas as dificuldades juntos. Mãe, eu te amo muito, essa conquista e reflexo de uma grande mulher.

A minha irmã, que sem o seu incentivo, NOVAMENTE, não estaria aqui. Realizando mais um grande sonho. Seu exemplo me dá força para conseguir sempre mais. A cada linha escrita da minha vida sua assinatura estará presente. Minha Irmã, Mãe, amiga e pai eu sempre te amarei. Como você sempre diz: Esta com medo? Vai com medo mesmo! Juntos somos um tripé.

A minha vó, que com sua força, esteve junto em todos os momentos da minha vida, suprimindo todas as necessidades que so uma verdadeira mãe faria pelos seus filhos. Amo muito a senhora.

Ao meu Pai, que apesar de sua ausência física, sua alma me conforta nos momentos de tristeza e desânimo. Sinto-te sempre ao meu lado. Essa caminhada é por você, meu eterno herói.

A minha segunda família, meu grande Cunhado e amigo (Carlos), Conceição, Carlos Pai e Inês. Seu apoio foi essencial para finalização desta grande etapa em minha vida. A vocês meu agradecimento meu amor e carinho. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, apoiando nos momentos mais difíceis e mais alegres, sem vocês tenho certeza que nada disso teria acontecido.

A minha orientadora Dr^a Natividade, que sempre acompanhou de perto as minhas dificuldades, minhas inseguranças e meus sonhos. Seus conselhos, suas experiências foram e são fundamentais para moldar minha trajetória de vida profissional e pessoal. Minha grande mãe do Norte, muito obrigado por me acolher tão bem.

Ao Professor Dr. Formigo, pelo auxílio e disponibilidade do desenvolvimento do trabalho. ao professor, meus sinceros agradecimentos.

Ao professor Doutor Renato de Medeiros Rocha, pelo apoio, conselhos e amizade. Sua presença foi fundamental para esta conquista.

Ao Professor Doutor Felipe Teles, pelo suporte e disponibilidade sempre que necessitei.

Ao meu grande Irmão e amigo de laboratório Carlos Pinheiro, que sua amizade e apoio nessa jornada, sem dúvida alguma, teria sido mais difícil, meus sinceros agradecimentos.

Aos meus amigos, em que tornaram essa jornada mais alegre e agradável: Carolina, Ana Ribeiro, Diogo Peixoto.

A faculdade de ciências e o departamento de biologia, por me acolher tão bem e me proporcionar essa experiência incrível, contribuindo para a minha formação profissional.

“Quando algo é importante o suficiente, você o faz, mesmo se as chances não estiverem ao seu favor”.

Elon Musk

Resumo

Os impactos ocasionados por ações antrópicas provocam alterações na estrutura funcional dos rios, levando ao desequilíbrio das comunidades biológicas, principalmente a microfitobentônica (MFB) e a avaliação sua dinâmica é um dos parâmetros biológicos exigidos pela Directiva do Quadro da Água (DQA). O Rio Sousa é reflexo dessa conjuntura tal como outros rios da Europa. Este rio pertence à bacia hidrográfica do Rio Douro (Porto/Portugal), tendo uma extensão de 95,3 km. A bacia do rio Sousa está envolvida por uma intensa atividade agrícola, comprovado pelas escorrências que aumentam a quantidade de nutrientes e poluentes na água. Além, das descarregas de esgotos urbanos e industriais, deteriorando constantemente a água. De acordo com o estado ecológico do rio, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta dos MFB às variações de estresses na massa de água, visando a análise da composição taxonômica da MFB, ao longo do rio e nas diferenças estações do ano. Paralelamente efetuou-se a avaliação dos parâmetros físico-químicos com o objectivo destes serem correlacionados com a estrutura da comunidade microfitobentônica, nas diferentes estações do ano. As amostragens foram realizadas mensalmente entre os meses de novembro de 2016 e julho de 2017. Foram identificadas 104 *taxa*, tendo sido observado uma variação e densidade de organismos ao longo do rio de acordo com flutuação dos parâmetros físico-químicos. No entanto, em todos os pontos de amostragem, a maior representatividade dos grupos foi expressa pelas diatomáceas, seguidas pelas algas verdes. A maioria das espécies foi considerada esporádica e/ou pouco frequente. Esses resultados mostram que, apesar da semelhança na composição microfitoplanctônica das estações de amostragem, a densidade celular varia de acordo com as condições ambientais, evidenciando a prevalência de Grupos Funcionais (GFs): **C, D, MP, N, Tb**; mais generalistas, com maior tolerância a ambientes com alta flutuação de nutrientes. Deste modo, conforme o distancianmento da nascente e aproximação da foz, ocorre uma variação populacional de GFs variando de acordo com a presença de campos agrícolas, indústrias e estações de tratamento de águas.

Palavra-chave: Rio, Grupos funcionais, Qualidade da água, Estado Ecológico, DQA, Diatomáceas, Algas verdes

Abstract

The effects caused by anthropic actions give rise to changes in the functional structure of rivers, leading up to the instability of biological communities, essentially the microphytobenthic (MPB): his dynamic is one of the biological parameters required by the water framework directive (WFA). The Sousa River is the reflection of this conjuncture just like several other rivers of Europe. This river belongs to the hydrographic basin of the Douro river (Porto, Portugal), possessing a stretch of 95,3km. The Douro river's basin is involved in many intense agricultural activities, proved through the run off, increasing the quantity of nutrient and pollutant in the water. Moreover, public and industrials sewerage are discharged, which is constantly deteriorating the water. According to the ecologic state of the river, the objective of this work is to evaluate the answer of the MPB regarding the fluctuation of stress in the water masse, aiming to the analysis of the taxonomic composition of the MPB over the river. Besides, evaluations of physicochemical parameters have been made in different season in order to be correlated with the phytobenthic communities' framework. The samplings have been accomplished between the month of November 2016 and July 2017. 104 *taxa* have been identified, and an observation has been made of a fluctuation and density of organism over the river in agreement with a variance of physicochemical parameters. However, in every place of samplings, diatoms and then green algae expressed the higher representativeness of the groups. Most species was considered sporadic and/or infrequent. Those results show that, despite of the similarities in the microphytoplanktonic's composition in the samplings places, the cellular density vary according to the environmental condition, making clear the prevalence of functional groups (FG): **C, D, MP, N, Tb**; more generalists, with a major tolerance in environments with a higher fluctuation of nutrients. Thus, according to the distancing of the source and approaching the eding zone river, there is a population variation of GFs varying according to a presence of agricultural fields, industries and water treatment plants.

Keywords: River, Functional groups, Water quality, Ecological state, WFD, Diatoms, Green algae

Sumário

1.	Introdução	13
1.1	Considerações gerais.....	13
1.2	Diretiva Quadro da Água (DQA).....	13
1.3	Biomonitorização ecológica	14
1.4	Avaliação Ecológica do estado da água.....	16
1.5	Microfitobentos: bioindicador da qualidade da água	16
1.6	Diversidade microfitobentônica em diferentes sedimentos.....	18
2.	Objetivos.....	19
2.1	Geral	19
2.2	Específicos	19
3.	Materiais e métodos	20
3.1	Caracterização da bacia hidrográfica do Rio Sousa.....	20
3.1.1	Enquadramento Geográfico	20
3.1.2	Poluição do Rio Sousa	21
3.2	Área de estudo.....	23
3.3	Periodicidade das amostragens	23
3.4	Parâmetros físico-químicos.....	24
3.5	Parâmetros microfitobentônicos	25
3.5.1	Tratamento das amostras.....	26
3.5.1.1	Extração e Centrifugação	26
3.5.2	Densidade microfitobentônica (Celulas/mL)	28
3.5.3	Grupos funcionais (GFs).....	28
3.5.4	Análise granulométrica	29
3.6	Tratamento dos dados.....	30
3.7	Análise de dados	31
3.7.1	Análise gráfica	31
3.7.2	Análise estatística	32
4.	Resultados e Discussão.....	33
4.1	Parâmetros físico-químicos.....	33
4.1.1	Temperatura da água	33
4.1.2	pH	34
4.1.3	Oxigénio dissolvido (mg/L)	35
4.1.4	Condutividade elétrica (µS/cm).....	35

4.1.5	Sólidos dissolvidos totais (SDT)	36
4.1.6	Sólidos suspensos (mg/L)	37
4.1.7	Carência bioquímica de Oxigênio (mg/L).....	38
4.1.8	Carência Química de oxigênio (mg/L)	39
4.1.9	Fosfatos (mg/L)	40
4.1.10	Nitrato (mg/L).....	41
4.1.11	Nitritos (mg/L)	42
4.1.12	Azoto amoniacal (mg/L).....	43
4.2	Parâmetros biológicos	45
4.2.1	Composição microfitobentônica	45
4.2.2	Classificação dos grupos funcionais	46
4.2.3	Chlorofila a vs granulometria.....	50
4.2.4	Índice de Diversidade e Equitabilidade	51
4.2.5	Presença de Microplásticos: Resultados adicionais	52
4.3	Análise estatística	54
5.	Conclusões.....	57
6.	Bibliografia.....	58
	Anexos	68
	Apêndice	69

Índice de figuras

Figura. 1- Classificação do estado ecológico da água segundo as normas da DQA.....	14
Figura. 2- Bacia hidrográfica do rio Sousa e seus afluentes	21
Figura. 3- Classificação da qualidade ecológica rio Sousa e a localização das Industrias alimentar, extractiva, transformadora e ETARs ao longo do curso fluvial	22
Figura. 4- Estratégia de contagem de células fitobentônicas.....	28
Figura. 5- Variação sazonal da temperatura da agua (°C).....	33
Figura. 6- Valores sazonais do pH.	34
Figura. 7- Valores sazonais do Oxigénio dissolvido (mg/L)	35
Figura. 8- Ponto 2 de Coleta; A Outono; B Primavera; C Verão	36
Figura. 9 - Valores sazonais da condutividade elétrica (µS/cm).....	36
Figura. 10- Valores sazonais dos sólidos dissolvidos totais (mg/L).....	37
Figura. 11- Valores sazonais dos sólidos suspensos (mg/L)	38
Figura. 12- Valores sazonais da carência bioquímicos de oxigénio (mg/L)	39
Figura. 13- Valores sazonais e espaciais da carência química de oxigénio	40
Figura. 14- Valores sazonais do fosfato (P2O5) (mg/L).....	41
Figura. 15- Valores sazonais de nitrato (mg/L)	42
Figura. 16- Valores sazonais de nitrito (mg/L)	43
Figura. 17- Valores sazonais de azoto amoniacal (mg/L).....	44
Figura. 18- Percentual de taxa presente ao longo dos quatro pontos de amostragem.....	45
Figura. 19- Relação entre a densidade celular do GF C e do fosfato ao longo dos pontos de coleta e estações do ano	47
Figura. 20- Densidade celular do GF D ao longo dos pontos de coleta.....	48
Figura. 21- Densidade celular do GF MP ao longo do rio Sousa	48
Figura. 22- Densidade celular para o GF N ao longo do rio Sousa	49
Figura. 23- [A; B]- Ponto 1 de amostragem na estação do outono; A- despejo direto de esgoto no rio, B- baixa profundidade com incidência luminosa direta no fundo do rio	50
Figura. 24- Variação espaço-temporal dos valores de Índice de diversidade de Shannon-Weaver- H' (Eixo y esquerdo) e do índice de equitabilidade de Pielou- E (Eixo y direito) da comunidade microfitobentônica	52
Figura. 25 Partículas de microplásticos (<5µm) em diferentes pontos de amostragem do rio Sousa. A – Ponto 1 Outono; B – Ponto 2 Primavera; Ponto 3 – Verão; Ponto 4 Verão.	53
Figura. 26- Diagrama de agrupamento das variáveis físico-químicas e biológicas	54
Figura. 27- Diagrama de agrupamento dos locais de amostragem e estações do ano	54
Figura. 28- Análise multivariada representada em gráfico, agrupando-os em diferentes parâmetros e pontos de amostragem para diferentes estações, do ano de acordo com suas similaridades e significâncias. Os grupos de significância que englobam os parâmetros físico-químicos e biológicos com mais de uma variável foram classificadpos por: “a”, “b”, “c”, “d” e “e”. PC- Plano cartesiano.	55

Índice de tabelas

Tabela. 1- Variáveis ambientais do rio Sousa	21
Tabela. 2- Estações de amostragens do rio Sousa	23
Tabela. 3- Parâmetros físico-químicos, determinação e unidades	25
Tabela. 4- Classificação da granulometria do sedimento.....	29
Tabela. 5- Lista de taxa por grupo funcional no Rio Sousa, Portugal, 2017	45
Tabela. 6- Valores da Clorofila a na primavera de acordo com a percentagem da variação granulométrica	51
Tabela. 7- Valores da Clorofila a no verão de acordo com a variação da granulometria	51

1. Introdução

1.1 Considerações gerais

A água é considerada um dos recursos naturais mais essencial, sendo responsável pelo equilíbrio ecológico ambiental e vital para a vida. Apresenta um elevado valor econômico, social e estratégico para o desenvolvimento humano, como a produção agrícola, industrial e crescimento urbano, traçando uma nova forma de vida de toda a sociedade. Contudo a sua importância não reflete no seu uso sustentável, constituindo o sistema natural mais afetado pelas atividades humanas (MEYBECK, 2003; VÖRÖSMARTY, 2005).

O sistema hídrico está estruturado para satisfazer as necessidades humanas, criando grandes reservatórios, para maximizar o seu acesso (MEYBECK, 2003; FCGWSP, 2004). Entretanto, o aumento considerável da utilização dos recursos hídricos nas últimas décadas é acompanhado de diversos prejuízos para o ecossistema e a biodiversidade, com elevados custos potenciais, mas não quantificados (VÖRÖSMARTY, 2005; ABELL *et al.*, 2008), tornando evidente a necessidade de uma reestruturação do modo de avaliação dos impactos para posterior reestruturação do modo de utilização desse recurso. (DUDGEON *et al.*, 2006). A criação de métodos que tentem reverter essas tendências, por meio de convenções e avaliações científicas, com o intuito de criar estratégias de proteção e monitorização da biodiversidade aquática e garantir a sustentabilidade dos sistemas de distribuição de água, requer quadros para diagnosticar as principais ameaças à segurança hídrica em escalas espaciais, de local para global. Diante dessas questões, foi criada a Diretiva da Quadro da Água (DQA, 2000).

1.2 Diretiva Quadro da Água (DQA)

Em outubro de 2000 o Parlamento Europeu estabeleceu a criação da Diretiva do Quadro da Água (DQA), que tem como objetivo uma nova forma de gestão das águas da União europeia, centrada na compreensão e integração de todos os aspectos ambientais aquáticos através da proteção, do melhoramento e da recuperação das águas superficiais interiores, de transição, das águas costeiras e das subterrâneas, implementando ferramentas de avaliação ambiental que visem alcançar um "bom estado ecológico" (DIRECTIVA 2000/60/CE, 2000). Esses esforços foram baseados em um período de seis anos, segundo o qual os objetivos do programa deveriam ser atingidos até 2015, desde que nenhum pedido de extensão ou exceção de prazo seja requerida. Os Estados-Membros que gozem de uma extensão para além de 2015 são

obrigados a atingir todos os objetivos ambientais da DQA até ao final do segundo e terceiro ciclos de gestão, que se estendem de 2015 a 2021 e 2021 a 2027, respectivamente (EUROPEIA COMISSÃO, 2012).

A diretiva direciona suas avaliações do estado da água através de avaliações do ecossistema, em que o estado ecológico é determinado tanto pelas propriedades físico-químicas da massa de água quanto pela estrutura da comunidade biótica, referida como "elementos de qualidade biológica" (COMISSÃO EUROPEIA, 2016). A caracterização do estado ecológico é definida em cinco classes: excelente, bom, razoável, medíocre e mau [figura 1]; por meio dos parâmetros: biológicos, físico-químicos e hidrogeomorfológico (DIRECTIVA 2000/60/CE, 2000). Essa nova abordagem veio substituir métodos tradicionais de gestão baseada na análise de pressões isoladas através de monitoramento de ponto de descargas individuais que tinha como foco aumentar a previsibilidade e estabilidade do sistema ambiental (HOLLING & MEFFE, 1996). No entanto, esse método não considerava a complexidade do ecossistema e suas interações.

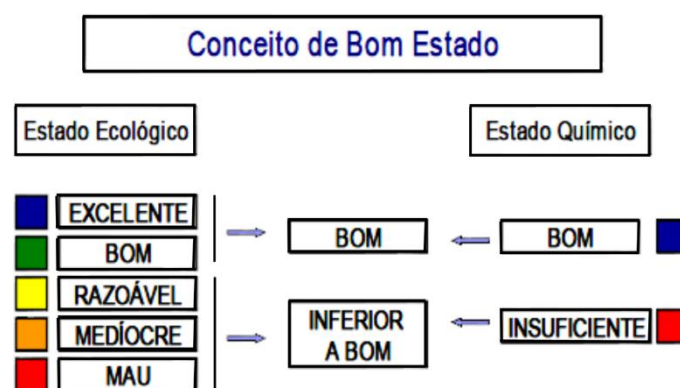


Figura.1 - Classificação do estado ecológico da água segundo as normas da DQA

A directiva oferece uma abordagem integrada e coordenada da gestão da água na Europa, onde o sistema hídrico está diretamente relacionado com a comunidade. Dessa maneira, juntamente com seus programas de implementação, a DQA estabelece um sistema integrado de medidas que visa à proteção das águas, de forma a prevenir a sua deterioração, protegendo e melhorando o estado dos ecossistemas aquáticos (SARAIVA, 2010).

1.3 Biomonitorização ecológica

A avaliação de um ecossistema baseia-se através de indicadores físico-químicos e biológicos, por meio de atributos estruturais ou funcionais mensuráveis (USEPA, 2002), fundamentais para uma avaliação ecológica. Ao longo de muitos anos os parâmetros físico-químicos eram utilizados como única ferramenta de avaliação das ações antrópicas em relação aos impactos ambientais frente às comunidades aquáticas. No entanto, já existem modelos de avaliações ambientais com base em algas desde o século 19 (HERING *et al.*, 2003; FERREIRA, 2006; HASSALL, 1850). Contudo a sua utilização restringe a avaliações do perfil aquático, por apresentar uma descontinuidade temporal, e sua avaliação demonstra um aspecto momentâneo, já que o fluxo hídrico apresenta uma dinâmica constante (GOULART & CALLISTO, 2003). A fim de aumentar a eficiência de detecção de impactos ambientais, gerados pela ação antrópica, a associação dos parâmetros físico-químicos aos parâmetros biológicos potencializa os resultados de amostragem a fim de traçar um perfil mais próximo da realidade (BUSS *et al.*, 2008).

A biomonitorização utiliza como ferramenta parâmetros biológicos capazes de detectar componentes exógenos presente no sistema aquático, fornecendo métricas quantificáveis (GU; MITCHELL; KIM, 2004), uma vez que, esta metodologia baseia-se em respostas metabólicas, comportamentais e estruturais dos organismos frente a estímulos, sejam eles artificiais ou naturais. Apesar das comunidades biológicas apresentarem uma dinâmica populacional, elas estão estruturadas e integradas no ecossistema de maneira a promover um fluxo de energia e favorecer a sucessão ecológica. Ou seja, toda e qualquer forma de perturbação, seja ela artificial ou não, terá como resposta uma desestruturação ambiental de pequeno, médio ou grande impacto. Nesse contexto, a biomonitorização avalia o conjunto de alteração e impactos que afetam um dado local, não apenas momentâneo, mas historicamente, uma vez que as comunidades aquáticas permitem correlacionar as condições ambientais passadas (BERNADINO *et al.*, 200).

A biomonitorização utiliza como organismos indicadores invertebrados bentônicos, peixes, macrófitas, fitoplâncton e microfitobentos (DIRECTIVA 2000/60/CE, 2000). Entretanto para cada tipo de ecossistema os organismos apresentam especificidades que favorecem as avaliações ambientais, principalmente no tipo de impacto. Em ribeiras e rios as microalgas bentônicas são o grupo de organismos mais abundantes, apresentam tolerância e preferências ambientais específicas, essenciais para serem caracterizada como bioindicador. Os principais métodos utilizados para esse tipo de avaliação abrangem o levantamento da abundância de organismos, diversidade, riqueza de espécies, produtividade primária e secundária e resposta a substância estranhas ao meio, por meio de ensaios ecotoxicológicos (BARBOUR *et al.*, 1999).

1.4 Avaliação Ecológica do estado da água

Estima-se que, em apenas um terço do território da UE, os rios estão em bom estado ecológico. O elevado crescimento populacional tem proporcionado um aumento significativo do consumo hídrico (WETZEL, 1993; VIEIRA, 2003). A construção generalizada de barragens, por exemplo, diminuiu os padrões de perturbação natural nos rios, homogeneizando as diferenças regionais de fluxo hídrico e criando efeitos transfronteiriços cumulativos (POFF *et al.*, 2007; ZIV *et al.*, 2012). A biodiversidade dos sistemas dulciaquícolas é a mais ameaçada pela poluição da água devido a atividades humanas na bacia hidrográfica, sobre exploração de peixes e a invasão do número de espécies exóticas (BUTCHART *et al.*, 2010). Todas essas ações resultam em múltiplas pressões sobre os ecossistemas de água doce, prejudicando sua biodiversidade e seu funcionamento ecológico. Devido a isto, a avaliação de múltiplas pressões sobre os ecossistemas aquáticos e a compreensão do seu impacto combinado sobre o estado ecológico é desafiadora, especialmente em macro escala, embora crucial para o planeamento de políticas efetivas (SMITH & SCHINDLER, 2008, VOROSMARTY *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2017).

Distinguir e quantificar a relação de causa e efeito entre múltiplas pressões e funcionamento ecológico é um grande desafio, especialmente quando se tem em consideração grandes áreas geográficas, trazendo diversos pontos a serem discutidos. A quantificação das pressões sobre os sistemas de água é dificultada por dados limitados e espacialmente heterogêneos; múltiplas pressões atuando simultaneamente em massas de água e seu efeito combinado é mal compreendido (Brucet *et al.*, 2013; Nöges *et al.*, 2001). Todos esses aspectos contribuem para uma grande complexidade na ligação entre múltiplas pressões o estado ecológico em massas de água. No entanto, a compreensão desse relacionamento é necessária para planejar políticas efetivas, e medidas de restauração, uma vez que a disponibilidade de recursos hídricos a longo prazo e muitos benefícios para as pessoas dependem de ecossistemas aquáticos saudáveis. Porém, é extremamente importante observar que as condições ecológicas são o resultado de impactos acumulados ao longo do tempo, condições naturais locais e variabilidade climática e que após a implementação dessas medidas os ecossistemas podem levar anos ou décadas para que se reestabeleça o seu equilíbrio ecológico (Hering *et al.*, 2015; Teichert *et al.*, 2016).

1.5 Microfitobentos: bioindicador da qualidade da água

Os microfítobentos (MFB), fazem parte do grupo fitoplânctônico, e estão presentes na parte superficial do sedimento onde realizam fotossíntese e que, através de qualquer tipo de stress ecológico, mistura-se na coluna da água. Os MFB são componentes estruturais de integridade ecológica, (diversidade) e funcional (biomassa), de grande acúmulo energético e apresentam uma grande prevalência e diversidade, em águas correntes representando 50% do total de clorofila *a* de todo o grupo fitoplânctônico presente na coluna d'água, segundo. (DE JONGE & VAN BEUSEKOM, 1992, KOH *et al*, 2007)

Com ciclos de vida curtos e protocolos de amostragem padronizados, os MFB foram sugeridos como indicadores para avaliar condições ambientais e impactos antropogênicos em muitos ecossistemas aquáticos, especialmente em sistemas de água doce. Diversos investigadores consideram os MFB como organismos essenciais para monitorização da qualidade ecológica devido às suas especificidades ambientais. Destaca-se assim, a: diversidade específica e espacialmente compactas, de maneira que alguns centímetros quadrados podem suportar mais de cem espécies; mobilidade reduzida, que os impedem de migrar para evitar poluição; rápido ciclo de reprodução, podendo ser observados efeitos a níveis genômicos; elevada tolerância e preferências ambientais específicas, respondendo diretamente à qualidade química da água; grande diversidade taxonômica e rápida resposta a perturbações ambientais (DU *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2016; STEVENSON *et al.*, 2010).

Em ambientes poluídos alguns MFB apresentam níveis de crescimento ótimo, entretanto outras espécies já não toleram um aumento dos níveis de poluentes, ocorrendo a diminuição da sua população, contribuindo para um *bloom* de espécie que suportam uma ampla gama de substâncias exógenas no ambiente (ORDEIX *et al.*, 2012). Apesar da grande prevalência de espécies generalistas, os MFBs apresentam respostas rápidas face a ambientes poluídos, servindo como bioindicadores, pois a presença de alguns grupos funcionais com características ecológicas mais específica permite um melhor rastreio do tipo de substância presente no meio (RODRIGUES, 2007).

A classificação de Grupos Funcionais (GF) da comunidade MFB poderia fornecer uma visão mais detalhada sobre a sua ecologia (SALMASO & PADISAK, 2007). Podendo confirmar métodos quantitativos que descrevem a estrutura e a variação da comunidade MFB (KRUK *et al.*, 2002). Atualmente o estudo de diversos tipos de espécies fitoplânctônica e sua ecologia vem sendo discutido por meio de um agrupamento desses organismos, chamando Grupo Funcionais (Padisak *et al.*, 2009). Dessa maneira, os grupos compostos por A, B, C, D, MP, N, P e T, normalmente são compostos por diatomácias; o F, G, J, K, MP, N, P, T, X e W por clorofitas; H, K, L, M,

MP, R, S, T, W e Z por cianobactérias e E, L, Q, U, V, W, X e Y por fitoflagelados (PADISAK *et al.*, 2009). Essas associações (*Códons*) não são exclusivamente de um grupo fitoplanctônico, além de cada códon poder ser subdividido, tais como S1 e S2. Apesar da classificação dos GFs terem sido feitas inicialmente para lagos a sua aplicação pode ser estendida para outros corpos hídricos, visto que a ecologia das espécies não se resume a um único tipo de habitat (REYNOLDS, 1999).

Dessa maneira a utilização dos GFs pode ser empregada para a avaliação da qualidade da água por meio de espécies indicadoras (TREMEL, 1996), além dos índices de diversidade de *Shannon-Weaver* e *Pielou*.

1.6 Diversidade microfitobentônica em diferentes sedimentos

Os MFB são grupos de fitoplânctons (diatomácias, euglenas, algas verdes, e cianobactérias), com uma importante produção primária. Sua ecologia é bastante complexa e habitam em diferentes tipos de sistemas, desde sedimentos a facilmente suspensos na coluna de água (KOH *et al.*, 2007). Apesar de sua heterogeneidade espacial a sua presença limita-se a uma profundidade média de 2mm, a depender da granulometria das partículas, visto que a penetração da luz nesse tipo de ambiente é reduzida, impossibilitando a realização de fotossíntese (COLIJN, 1982; SERODIO *et al.*, 1997; KUHL *et al.*, 1994).

O tipo de sedimento pode influenciar as condições químicas e físicas dentro de sua matriz, refletindo na riqueza e diversidade de MFB encontrado (PATERSON & HAGERTHEY, 2001). A abundância dos MFBs pode ser influenciada por vários fatores, como ressuspensão, disponibilidade de nutrientes e luz, fatores que estão diretamente relacionados com a sua biomassa (UNDERWOOD & KROMKAMP, 1999). Entretanto, segundo Riaux-Gobin e Bourgoïn (2002), o substrato é um dos principais fatores que determinam a abundância e composição das comunidades microfitobentônicas. Alguns trabalhos demonstram que sedimentos mais arenosos estão associados a maiores níveis de clorofila *a*, visto que as diatomácias é o grupo de maior representatividade presente aderidas em rochas e pequenos fragmentos, com maior expressividade em sedimentos com maior granulometria (CAHOON & SAFI, 2002). Ainda que alguns estudos demonstrem que os níveis de clorofila *a* é inversamente proporcional a granulometria do sedimento (RIAUX-GOBIN *et al.*, 1987; PERKINS *et al.*, 2003).

De acordo a influência da comunidade fitobentônica na produtividade primaria das massas de água estudamos a sua estrutura e a influência de diversos tipos de poluição numa massa de água do Norte de Portugal.

2. Objetivos

2.1 Geral

Analisar a relação dos grupos funcionais microfitobentônicos com os parâmetros físico-químicos do Rio Sousa e suas variações espaço-temporal, segunda a Directiva do Quadro da Água

2.2 Específicos

- Analisar a dinâmica populacional microfitoplanctônica ao longo do curso fluvial
- Avaliar a dinâmica da comunidade microfitobentônica sazonalmente
- Verificar a correlação existente dos parâmetros físico-químicos e da comunidade microfitobentônica

3. Materiais e métodos

3.1 Caracterização da bacia hidrográfica do Rio Sousa

De acordo com alguns estudos clássicos em geomorfologia o comportamento hidrológico de uma bacia hidrográfica está diretamente relacionado com suas características geomorfológicas tais como: forma, relevo, área, geologia, rede de drenagem, solo, entre outros (HORTON, 1945; STRAHLER, 1957; SCHUMM, 1956). Os dados morfométricos podem ser utilizados como suporte para o gerenciamento de bacias hidrográficas através da previsão do comportamento hidrológico (OLSZEWSKI *et al.*, 2011), identificando alterações ambientais (ALVES E CASTRO, 2003) e servindo como um auxílio para um zoneamento territorial (ABUD *et al.*, 2015).

O comportamento hidrológico de uma bacia hidrográfica também é afetado pela ação humana, tais como alterações no curso fluvial e uso intensivo do solo, que por sua vez interfere nos processos do ciclo hidrológico, em processos físicos, químicos e biológicos dos ecossistemas fluviais e consequentemente modificando as comunidades biológicas (KARR, 1991; TONELLO, 2005). Esse processo vem ocorrendo nos cursos fluviais na região norte de Portugal, principalmente na região da bacia hidrográfica do Rio Sousa (INAG, 2016).

3.1.1 Enquadramento Geográfico

Situado a Noroeste de Portugal continental, o Rio Sousa, em termos hidrográficos, está inserido na bacia hidrográfica do rio Douro [figura 2]. Com seu relevo acidentado e natureza litológica silicosa, com baixa mineralização, o rio Sousa é um afluente do rio Douro juntamente com os rios Cavalum, Mezio e Ferreira. Está localizado em uma zona de temperaturas médias anuais baixas, variando de 12 a 13°C e elevada precipitação. Os cursos de água encontram-se a baixas e médias altitudes e seu escoamento médio anual varia de 300 a 800 mm.

A sua bacia hidrográfica possui uma área de 300.234 km² e percorre os concelhos de Felgueiras, Lousada, Penafiel, Paredes e Gondomar (INAG, 2008). Apresenta como afluentes secundários, em sua margem esquerda desde a sua nascente, a Ribeira da Ribeira, Ribeira de Caide, Ribeira de Outeiro e a Ribeira de Santa comba principais em sua margem direita, a Ribeira de Longra, Barrosas, Pontarrinhas, Centiais, Bustelo e Fontão.



Figura.2 - Bacia hidrográfica do rio Sousa e seus afluentes

Com uma extensão total de 95.3 Km, desde a sua nascente (Friande- Felgueiras) até a foz (Gondomar), onde seus primeiros 25 km são caracterizados como um rio de pequena dimensão, por sua área de drenagem inferior a (<) 100 km², e em seu restante curso fluvial é definido como média-grande dimensão, com área de drenagem > 100 Km² (INAG, 2008) [Tabela 1].

Tabela. 1- Variáveis ambientais do rio Sousa

Variável	Média ± DP
Temperatura média anual (C°)	12,42±1,26
Precipitação média anual (mm)	1190,25±357,80
Altitude (m)	413,27±242,20
Dimensão da área de drenagem (km ²)	32,28±22,86
Amplitude térmica do Ar (°C)	10,07±1,31
Coeficiente de Variação da precipitação	0,28±0,01
Longitude (WGS 84)	6° 12' W a 8° 51' W
Latitude (WGS 84)	39° 55' N a 41° 57' N
	Min. – Max.
Regime de escoamento	≤ 25km; Entre 100 a 1800 mm ≥ 25km; Entre 100 a 2200 mm

3.1.2 Poluição do Rio Sousa

O Rio Sousa apresenta uma elevada degradação ambiental, seja por descargas de poluentes industriais ou descargas de efluentes sem tratamento prévio. Os impactos ocasionados estão diretamente conectados com o aumento demográfico da região, onde o desenvolvimento acelerado das atividades económicas não traz consigo um desenvolvimento sustentável, como por exemplo o saneamento básico adequado.

A bacia hidrográfica do rio Sousa está marcada por intensas descargas diretas de efluentes domésticos e industriais ao longo de todo o seu curso [figura 3]. Para além das fontes poluidoras pontuais a utilização de fertilizantes e pesticidas constituem fontes de poluição de carácter difuso a serem consideradas, uma vez que percolam no solo e atingem as massas de água, elevando os níveis azoto e fósforo acima do permitido na legislação. Este tipo de poluição constitui um dos mais graves problemas a nível estratégico de mitigação de impactos, visto que as repercussões a nível do controle da poluição e da adoção de estratégias de recuperação se tornam muitas vezes inviáveis, trazendo prejuízos ambientais a níveis sistémicos na cadeia alimentar (LOBO, 1997).

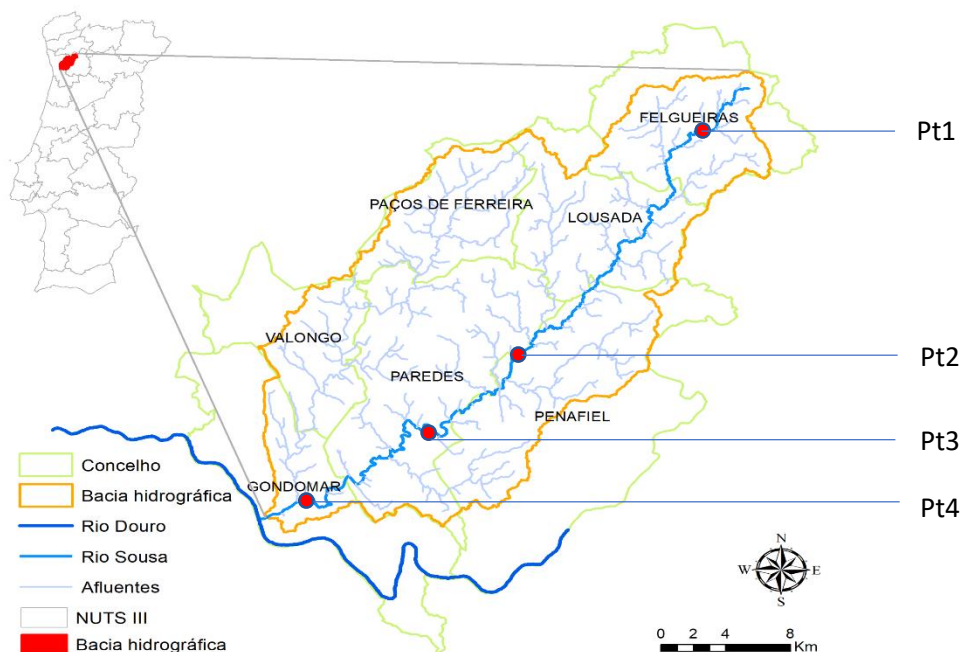


Figura. 3- Classificação da qualidade ecológica rio Sousa e a localização das Industrias alimentar, extractiva, transformadora e ETARs ao longo do curso fluvial

Apesar da sua grande importância para a região como um grande afluente do Rio Douro, o rio Sousa não apresenta dados robustos que possam ser utilizados para traçar um perfil ecológico em um grande intervalo temporal. Dessa maneira, o presente trabalho visa a geração de dados que possam ser utilizados como embasamento para políticas ambientais.

3.2 Área de estudo

Diante da sua elevada extensão, impossibilitando uma cobertura de amostragem em todo o seu curso, foram escolhidos 4 pontos de colheita (Pt1, Pt2, Pt3 e Pt4) com três réplicas cada, desde a sua nascente até a sua foz, de modo a obter uma maior representatividade do corpo hídrico em sítios com características distintas.

Tabela. 2- Estações de amostragens do rio Sousa

Estação de coleta	Coordenadas geográficas	Descrição
Agra (Pt1)	41°20'10.13"N 8°12'15.72 W	Localizado mais a montante, a 5 km da nascente do rio Sousa, situado no concelho de Felgueiras
Poços (Pt2)	41°11'29.46"N 8°20'5.98"W	Situa-se na freguesia de Guilhufe e Urrô no concelho de Penafiel
Senhora do Salto (Pt3)	41°7'41.49"N 8°25'59.97"W	Pertence ao Sítio da Rede Natura 2000 "Valongo" (PTCON0024). Está localizado no concelho de Paredes
Foz do Sousa (Pt4)	41°5'54.69"N 8°29'38.51"W	Localizado na freguesia do Foz do Sousa no concelho de Gondomar. É o local que se encontra mais a jusante do rio Sousa, próximo da confluência com o rio Ferreira

3.3 Periodicidade das amostragens

A fim de avaliar o funcionamento do ecossistema aquático, a frequência ideal de amostragem para MFB seria quinzenal ou até semanal, onde seria possível uma melhor visualização da variação da comunidade ao longo do tempo, já que o ciclo de vida microfítobentônico completa-se semanalmente (REYNOLDS, 1984, 1990). Entretanto, as limitações logísticas e temporais, além dos recursos humanos e financeiros impossibilitaram uma maior periodicidade de amostragem. Sendo, assim, realizada sazonalmente nas estações do ano: outono, primavera e verão, entre os meses de novembro de 2016 e julho de 2017.

O conteúdo das amostras engloba: (1) água, para determinação de parâmetros físico-químicos; (2) sedimento superficial, para determinação da diversidade fitobentônica; no outono, primavera (onde ocorre os *blooms*, pela presença excessiva de nutrientes e alta luminosidade) e no verão, em que a taxa de crescimento fitoplanctônico estabiliza e começa um breve declínio na comunidade e (3) Além da utilização do sedimento para avaliação da sua granulometria.

As amostragens dos MFB devem ser realizadas em períodos de caudal constante, visibilidade e substrato submerso, o que pode sofrer interferências durante

precipitação elevando a turvação da água e perturbação da comunidade MFB, sendo preferencialmente realizado a recolha antes de precipitações ou duas semanas após a sua ocorrência (INAG, 2008).

As amostragens podem ser realizadas em qualquer estação do ano, principalmente na primavera, entretanto no período de inverno optou-se por não ser feita, uma vez que as taxas de crescimento das células são reduzidas, traduzindo para um menor espectro em respostas ambientais (INAG, 2008).

3.4 Parâmetros físico-químicos

A caracterização dos parâmetros físico-químicos permite quantificar e identificar as características abióticas do habitat e avaliar seus efeitos no ambiente, visto que esses elementos estão diretamente relacionados com os valores de composição, diversidade e produtividade dos elementos biológicos (CORTES, 1981). Os parâmetros físico-químicos (Tabela 3) foram selecionados com base em sua relevância para com os objetivos do trabalho. Desta maneira, a monitorização da qualidade da água através dos parâmetros físico-químicos relacionados aos parâmetros biológicos traz resultados mais substanciais que permite analisar os tipos e níveis de nutrientes, metais, entre outros, que estão presentes de acordo com os exigidos na legislação Europeia (OLIVEIRA, 2007).

Para estruturação do protocolo de avaliação da qualidade físico-química da água, o protocolo utilizado tem como referência normas instituídas pela Diretiva 2000/60/CE, já que a DQA prevê que os parâmetros físico-químicos deveriam constituir três classes de qualidade (“excelente”, “bom” e “razoável”) (INAG, 2009, DQA, 2000). As condições da qualidade da água para o presente trabalho foram, também, avaliadas em comparação aos termos globais utilizando-se, para tal, a tabela de classificação dos cursos de água superficiais de acordo com as suas características de qualidade para usos múltiplos, normalizada pelo INAG (2004) (Tabela 3). Dessa maneira, avaliamos o teor de oxigénio dissolvido, temperatura da água e do ar, pH, sólidos dissolvidos totais e condutividade in situ, por meio de uma sonda multiparamétrica. E para análise da carência química de O₂ (CQO), carência bioquímica de oxigénio (CBO₅), nutrientes (nitratos, nitritos, fosfatos e amoníaco) e de sólidos suspensos utilizamos um frasco plástico de 1L, devidamente etiquetados (local e data de recolha), e transportados numa caixa térmica para laboratório, de modo a ser feita a determinação destes parâmetros de acordo com a APHA (1992).

Tabela. 3- Parâmetros físico-químicos, determinação e unidades

Elementos Físico-Químicos Gerais	Parâmetros	Unidades
Condições térmicas	Temperatura	°C
Condições de oxigenação	Oxigénio dissolvido	mg L ⁻¹
		mg L ⁻¹
Salinidade	Condutividade eléctrica	µS/cm ⁻¹
Estado de acidificação	pH	Escala de Sorensen
	Sólidos Suspensos Totais	mg/L
	Sólidos dissolvidos totais	Ppm
Condições relativas a Nutrientes	Nitratos (NO ₃ ⁻)	mg L ⁻¹
	Nitritos (NO ₂ ⁻)	mg L ⁻¹
	Fosfatos (PO ₄ ³⁻)	mg L ⁻¹
	Amoníaco (NH ₃)	mg L ⁻¹

3.5 Parâmetros microfitobentônicos

Em águas correntes, as microalgas bênticas são considerados um dos grupos de organismos de maior riqueza específica (MEYER, 2007), sendo de extrema importância uma delimitação e reconhecimento do local para sua posterior classificação ecológica. Segundo Margalef (1983), a comunidade fitoplanctônica atua como sensor específico dos processos ambientais. A diversidade de microfitobentos está diretamente relacionada com o tipo de sedimento, refletindo na sua diversidade e biomassa e influenciando na sua biogeoquímica através da absorção e liberação de nutrientes, além de ser um fator estruturante do sedimento por meio da produção de exopolímeros (PATERSON & HAGERTHEY, 2001; RIZZO *et al*, 1992; GRANT *et al.*, 1986). Dessa maneira, A DQA fornece descrições qualitativas para a classe de microfitobentos; “Excelente”, “Bom” e “Razoável”, onde as classes de qualidade representam vários graus de perturbação nas comunidades biológicas (item 1.2 do anexo V da DQA). Assim, as recolhas foram direcionadas para tipos de sedimentos que apresentavam

granulometria visivelmente diferenciadas, a fim de avaliar como um fator de influência na diversidade fitobentônica (CARTAXANA, 2006).

A recolha do material ocorreu através da utilização de cores de 47 mm de diâmetro e 13 mm de profundidade, na parte superficial do sedimento, onde contém uma maior quantidade de clorofila *a*, devido a penetração superficial da luz (BRITO *et al.*, 2009; YALLOP *et al.*, 1994). Transferido posteriormente para um pequeno pote plástico coberto com alumínio, devidamente identificados, e acondicionado em uma mala térmica a 4°C, para proteger do contato com a luz e altas temperaturas (evitando que a clorofila *a* seja degradada) e seguindo posteriormente para o laboratório.

3.5.1 Tratamento das amostras

Em laboratório, as amostras foram divididas em subamostras homogêneas necessárias para posterior análise de identificação taxonômica e granulometria do sedimento. Colocada em tubos de plástico de 50 cm³, cobertos com papel alumínio.

3.5.1.1 Extração e Centrifugação

Cada amostra foi colocada em um tubo de plástico de 50 cm³ e coberto de papel alumínio. O solvente, acetona 90%, foi adicionado a cada amostra, mantendo a proporção do volume do solvente para com o peso do sedimento, seguindo para agitação no vortex. As amostras foram então colocadas no congelador a -20°C, overnight, para extração. Posteriormente, os tubos foram centrifugados durante 10 min a 3000 rpm, seguindo a posteriori para leitura espectrofotométrica.

3.5.1.2 Análise de pigmentos (Clorofila *a*)

O método utilizado foi adaptado de Parsons *et al.* (1984) para medir a clorofila *a* e feopigmentos usando as equações de Lorenzen (LORENZEN, 1967).

As amostras foram medidas em células de vidro de espectrofotômetro de comprimento de caminho ótico de 1 cm a comprimentos de onda de 665 e 750 nm.

Foram transferidos 3 ml do extrato da amostra do tubo de centrifuga para uma cuvette, pipetando cuidadosamente. Posteriormente foi medido a absorvância a 750 e 665 nm, contra o branco de acetona de 90%. Em seguida adicionou-se 100 µl de ácido clorídrico (HCl 0,1 N) na cuvette, misturando cuidadosamente. Mediu-se novamente a absorvância da amostra a 750 e 665 nm (Pós acidificação). Todas as amostras coletadas sazonalmente seguiram o mesmo tratamento.

A concentração de clorofila *a* e opigmentos foram calculadas de acordo com as equações de Lorenzen (1967).

3.5.1.3 Identificação e contagem

As sub-amostras de sedimento, que foram divididas em laboratório após a coleta, utilizadas para a identificação e contagens do fitoplâncton foram armazenadas em frascos transparentes, fixados em solução Lugol a 0,5 ml para cada 100 ml de amostra (LUND *et al.*, 1958). Entretanto, essa razão muda de acordo com a quantidade de matéria orgânica presente na amostra, quanto maior a taxa maior a quantidade de lugol utilizada.

Por meio de um microscópio ótico de inversão, Zeiss Axiovert 40 C°, foi realizado uma identificação e contagem através do método de Utermöl (1958), após cerca de 3 horas de sedimentação, utilizando uma câmara de sedimentação (MARGALEF, 1983). Esse método é normalmente utilizado para obter dados sobre a composição, abundância e biomassa (biovolume) do microfitobenton. Esse procedimento foi baseado na norma EM 15204:2006, no standart methods 10200F e 10200I (APHA, 1999).

A identificação e registro dos indivíduos foi efetuada com o apoio do livro *Susswasserflora Von MittleEuropa*, artigos científicos e catálogos ilustrados. Sua densidade foi estimada através da extrapolação da área total da câmara vs o volume analisado. A identificação taxonômica dos MFB presente nas amostras em estudo foi realizada até ao nível taxonômico mais baixo possível, na maioria dos casos a nível de gênero, salvo algumas exceções a nível de espécie. De maneira a minimizar os erros de identificação foram excluídos os organismos que não se encontravam inteiros.

A estratégia utilizada para contagem das células seguiu por meio da Contagem completa da câmara [figura 4], em que se efetua o deslocamento da câmara no sentido esquerda-direita, ao passo que se contabiliza o número de células em cada linha.

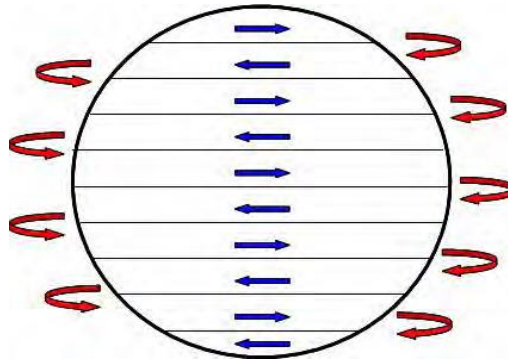


Figura. 4- Estratégia de contagem de células fitobentônicas

3.5.2 Densidade microfitobentônica (Celulas/mL)

O cálculo da densidade fitoplanctônica (cel/ mL^{-1}) foi realizado segundo a formula abaixo, calculada a partir das recomendações de APHA (2005). Os dados obtidos são agregados por grupos funcionais, com base na classificação fitossociologica proposta por Reynolds *et al.*, (2002).

$$N = X \times \frac{Axd}{axv}$$

Onde:

N = Número de unidades por volume na amostra (unidades/ml)

X = Número médio de unidades por quadricula ou transepto (ou número total de unidades na câmara)

A = Área da Câmara

v = Volume da amostra sedimentado na câmara

a = Área do campo de contagem (quadricula, transepto ou câmara)

d = Factor de diluição ou concentração da amostra (1x diluído $d= 2$; 1x concentrado $d = 0,5$), se aplicável

3.5.3 Grupos funcionais (GFs)

A resposta do ambiente a estresses naturais ou antrópicos podem ser observados na resposta das comunidades fitoplanctônica. Detalhes da ecologia do fitoplâncton utilizando grupos funcionais podem ajudar na caracterização das condições ambientais. Esse modelo criado por Reynolds *et al.*, (1997) utiliza a classificação

funcional das algas capaz de refletir a ecologia das espécies, que são agrupados de acordo com suas estratégias de sobrevivência e suas adaptações as condições ambientais. Esse quadro leva em consideração a tolerância ou a sensibilidade dos organismos a variáveis físico-químicas do sistema aquático nela inseridos. Esses grupos estão diretamente relacionados com o estado trófico de um sistema aquático.

No presente trabalho, utilizou-se a classificação formulado por Reynolds *et al.* (2002) e revista por Padisák *et al.* (2009), descrevendo os padrões fitoplancônicos em diversos tipos de ecossistemas aquáticos, facilitando a compreensão de processos bióticos, através da relação entre *taxa* e fatores físicos e químicos.

3.5.4 Análise granulométrica

As partículas de sedimento apresentam uma grande variabilidade de dimensões, desde decímetros a metros de diâmetro, até sedimentos compostos por partículas extremamente pequenas, coloidais, da ordem de alguns micras. A grande variabilidade de dimensões das partículas que constituem um depósito é extremamente elevada, coexistindo elementos com metros de diâmetro numa matriz de partículas pequenas (como nos depósitos formados por alguns fluxos detríticos). A avaliação das dimensões das partículas é importante pois permite deduzir indicações sobre a sua origem e sobre os ambientes deposicionais [tabela 4]. A análise granulométrica consiste na determinação das dimensões das partículas presente no sedimento e no tratamento estatístico dessa informação. Dessa maneira, o presente trabalho visa determinar as dimensões das partículas individuais e estudar a sua distribuição, quer pelo peso de cada classe dimensional considerada, quer pelo seu volume, quer ainda pelo número de partículas integradas em cada classe.

O método utilizado neste trabalho foi por Método de peneiração, em que se utiliza uma torre de Crivo [tabela 4], composto por peneiras de diferentes diâmetros, 2mm, 1mm, 0,5mm, 0,250mm, 0,125mm e 0,63mm. Anterior a pesagem, as amostras foram submetidas a uma temperatura de 475 °C para remoção da matéria orgânica por um período de 10 horas. Posteriormente, sua massa seca foi avaliada, seguindo para peneiração. O sedimento separado em cada peneira foi pesado e caracterizado a sua granulometria por meio de uma tabela específica.

Tabela. 4- Classificação da granulometria do sedimento

Classificação	Fração Limite
Matacão	de 25 cm a 1 m
Pedra	de 7,6 cm a 25 cm
Brita	de 4,8 mm a 7,6 cm

Areia grossa	de 1,2 mm a 4,8 mm
Areia média	de 0,3 mm a 1,20 mm
Areia fina	de 0,05 mm a 0,3 mm
Silte	de 0,005 mm a 0,05 mm
Argila	inferior a 0,005 mm

3.6 Tratamento dos dados

Um ambiente com elevada diversidade ecológica leva a uma maior estabilidade do ecossistema (MCGRADY-STEED *et al.*, 1997; TILMAN *et al.*, 2006). A alta diversidade ou riqueza e uma distribuição homogênea de indivíduos entre as espécies encontradas (alta equitabilidade) é a base que suporta a avaliação por meio de índices variados, que os ecossistemas não perturbados são caracterizados. Em ambientes com elevada interferência antrópica tende a uma variação ambiental, como por exemplo, a descarga de poluentes orgânicos, a comunidade geralmente responde com uma diminuição na diversidade. Na medida em que os organismos mais susceptíveis a mudanças ambientais perdem seu espaço no ambiente, os organismos com um maior espectro de tolerância a variações ambientais passam a sobrepor sobre outras comunidades, consequentemente levando uma diminuição na equitabilidade e diversidade (MAGURRAN, 1991). Diversos estudos abordam a importância da biodiversidade como base para o funcionamento de toda uma estrutura trófica, protegendo todo o ecossistema de flutuações ambientais. Estas complexidades podem ser representadas através de modelos teórico-matemáticos baseado em interações observadas no meio natural, nos ajudando a prever a existência de descontinuidade e limitações (SOLÉ & BASCOMPTE, 2006). Os microfitobentos, por sua vez, estão situados na base da cadeia alimentar, são os organismos de primeiro impacto, ou seja, fundamentais para prever respostas do ecossistema a mudanças ambientais induzidas por ações antrópicas. Dessa maneira, os índices de diversidade estão dependentes do número de espécies presentes e do número de indivíduos de cada espécie. O presente trabalho utilizou os índices de diversidade de Shannons-Weaver (1949) e o índice de equitabilidade de *Pielou* (1975), além dos índices bióticos, que permitem correlacionar os parâmetros físico-químicos aos biológicos.

Índice de diversidade de Shannon-Weaver (1949)

O índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') foi utilizado com o objetivo de avaliar a diversidade de grupos populacionais diferentes, avaliando a distribuição das espécies no ecossistema (BEGON *et al.*, 1996).

O índice pode ser calculado de acordo com a formula:

$$E = \frac{H'}{\ln S}$$

Onde:

S - Número de espécies (ou de outros grupos sistemáticos);

N_i - Número de indivíduos do grupo taxonômico i;

N - Número total de indivíduos;

ln - Logaritmo natural ou neperiano.

Índice de equitabilidade de Pielou

O índice de equitabilidade de Pielou (E) tem como base o índice de diversidade de Shannon, que permite traçar um perfil da distribuição de diferentes táxons em um ecossistema. O valor de representatividade máxima de equitabilidade de espécies de um ecossistema é representado por E=1 e a representatividade mínima, de E=0, caracterizando uma medidade de equilíbrio das espécies presente no esossistema (PIELOU, 1966).

Este índice pode ser calculado através da seguinte formula:

$$H' = - \sum_{i=1}^S \left(\frac{N_i}{N} \right) \ln(N_i/N)$$

Onde:

H' - Índice de diversidade de Shannon – Wiener

ln - Logaritmo natural ou neperiano

S - Número de espécies (ou de outros grupos sistemáticos).

3.7 Análise de dados

3.7.1 Análise gráfica

Os dados foram analisados e expressos graficamente, utilizando o Microsoft Office Excel 2010, demonstrando com mais facilidade e clareza os dados obtidos, evidenciando as variações e relações espaço-temporal dos parâmetros físico-químicos e biológicos.

3.7.2 Análise estatística

O conjunto de dados foram analisados por meio da análise multivariada, efectuando-se uma análise dos componentes principais. As relações entre os parâmetros avaliados foram consideradas significativas a $P \leq 0,05$. Esta análise facilita a interpretação da estrutura de um conjunto de dados multivariados a partir das respectivas matrizes de correlações entre os parâmetros considerados (Bernardi et al., 2009). Além de ordenar e identificar os parâmetros responsáveis por grandes variações entre os resultados, permitindo transformar um conjunto de variáveis originais inter-correlacionadas num novo conjunto de variáveis não correlacionadas, as componentes principais (Rodrigues & Branco, 2006). Desta maneira, este tipo de análise compila um grande número de dados disponíveis, possibilitando ainda, a identificação das medidas responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, sem perdas significativas de informações (Vicini, 2005). O objectivo da análise empregada neste trabalho foi reduzir o conjunto de dados a ser analisados e traçar uma relação entre as variáveis estudadas (Vicini, 2005).

Juntamente com a PCA a análise de cluster ou análise de agrupamento foi empregada, através da avaliação dos parâmetros físico-químicos e biológicos entre os locais de amostragem e as estações do ano, os valores foram colocados em grupos homogêneos, observando suas similaridades e dissimilaridades em um gráfico *Scatterplot*

Todas as análises realizadas foram efetuadas no programa STATISTICA.

4. Resultados e Discussão

4.1 Parâmetros físico-químicos

4.1.1 Temperatura da água

A temperatura é o principal parâmetro que influencia todos os processos biológicos, interferindo em reações químicas dos processos biológicos, como por exemplo a fotossíntese e a respiração. Além, de traçar um perfil populacional da comunidade fitoplânctonica, através da oscilação da temperatura ao longo do ano e favorecendo a ressuspensão de nutrientes no inverno e aumento da temperatura na primavera levando a formação de *blooms*. Assim, velocidade de multiplicação do fitoplâncton está diretamente relacionada com o aumento da temperatura, promovendo o aumento dos processos metabólicos nos ambientes aquáticos, além de promover as reações enzimáticas da fotossíntese resultando em uma alta taxa de produtividade primária.

Na figura 5, é possível observar que as temperaturas variaram de acordo com as estações do ano. Contudo, no primeiro ponto de coleta (Outono), o respectivo valor apresentou um ligeiro aumento, não esperado. Este aumento pode ter contribuído com o aumento da densidade microfítobentônica [figura 19], favorecendo o seu crescimento diferenciado frente aos pontos subsequentes de outono. Apesar da análise de correlação linear não demonstrar nenhuma relação significativa entre temperatura e densidade celular, ele mostra uma relação direta com a disponibilidade de oxigénio presente na água, que por sua vez está diretamente relacionado com a temperatura (Hein et al., 2014).

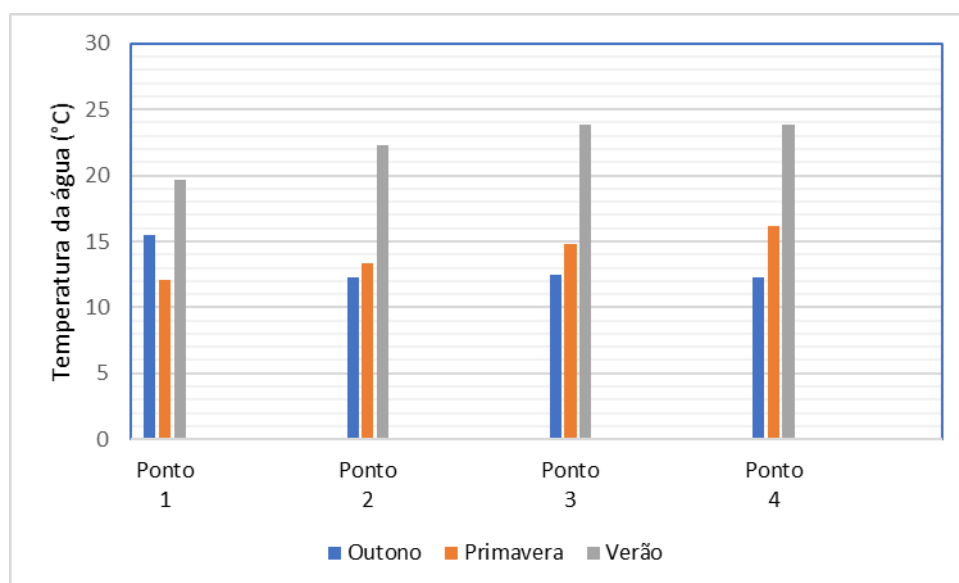


Figura. 5- Variação sazonal da temperatura da água (°C)

4.1.2 pH

O pH é uma medida utilizada para avaliar a condição ácida, neutra ou alcalina de uma determinada solução aquosa, por meio da concentração de hidrogénio (Sawyer *et al.*, 1994). O pH dos rios está relacionado a fatores naturais, como por exemplo a dissolução de rochas, a diluição do CO₂ atmosféricos na água, oxidação da matéria orgânica e fotossíntese ou a fatores artificiais, através da ação humana, por meio de descargas de esgotos, uso indiscriminado de fertilizantes e descargas direta de químicos na água (VON SPERLING, 2005). Normalmente o pH de águas doces é mantido ao redor do neutro (7), por meio do sistema de tamponamento, com base nas concentrações do CO₂. O Gás carbônico se dissolve na água formando CO₂ solúvel e ácido carbônico (H₂CO₃). Durante o processo de fotossíntese o CO₂ é utilizado, variando o pH, sendo tamponado pelo carbonato presente na água. Contudo, quando ocorre florações o sistema de tamponamento na água tarda a se reequilibrar, pois a fotossíntese utiliza o CO₂ ocorrendo o aumento da produção de H₃CO₃ por meio da fotossíntese (BEAUFORT *et al.*, 2011).

De acordo com a figura 6, os valores de pH mantem-se dentro dos parâmetros exigidos na legislação ao longo das estações, dentro do intervalo de classificação “excelente” da qualidade da água, entre 6,5 e 8,5, de acordo com o anexo I da DQA. Contudo, na estação do outono, desde o primeiro ao quarto ponto, houve uma maior redução do pH comparado com as outras estações.

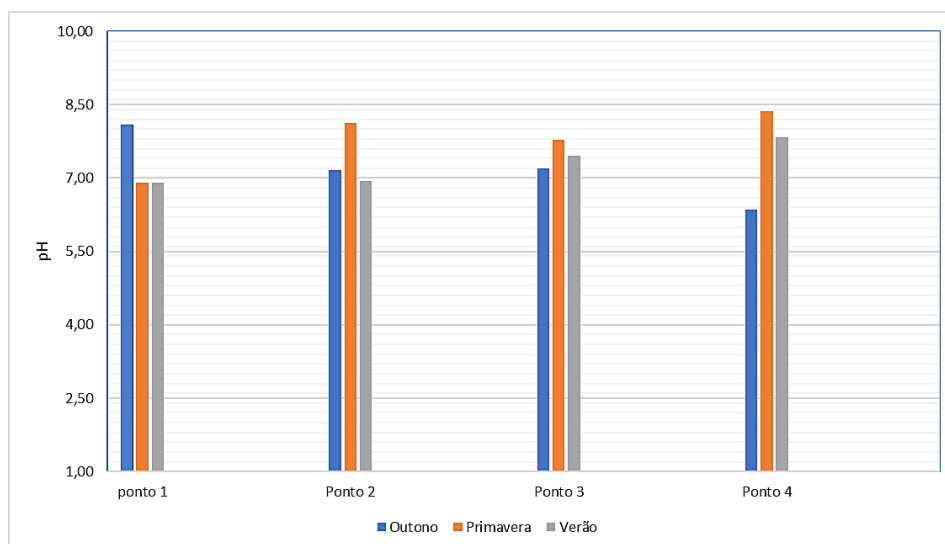


Figura. 6- Valores sazonais do pH.

4.1.3 Oxigénio dissolvido (mg/L)

A determinação deste parâmetro é essencial para determinar a compreensão da dinâmica populacional das espécies microfitobentônicas, visto que a concentração de oxigénio dissolvido na água afeta diretamente a taxa de crescimento de microalgas (RASO *et al.*, 2012). De acordo com a análise da figura 7 é possível observar que os valores de oxigénio dissolvido apresentaram valores equiparados aos pontos de coleta e ao longo das estações do ano, não ocorrendo elevadas variações. Contudo, apenas o primeiro ponto, para a estação do Outono, apresentou valor adverso aos outros pontos de coleta, visto que a sua concentração no ponto 1 apresentou um valor de 7,25 mg/L. Porém, neste mesmo ponto foi observado um pequeno aumento na temperatura [figura 5], levando a redução da disponibilidade de oxigénio na água. Essa diminuição do oxigénio dissolvido na água com o aumento da temperatura já foi relatada por Griller & Malmqvist (1998), em que mostrou que o teor de oxigénio dissolvido é inversamente proporcional com a temperatura. Tal afirmação pode ser observado com os valores obtidos no período do verão, sendo assim, justificados pelo aumento da temperatura.

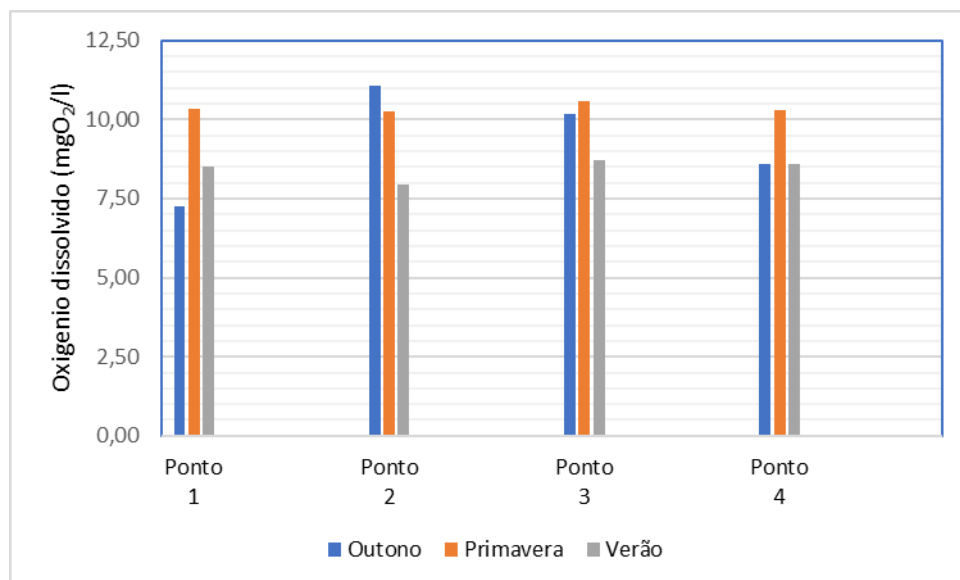


Figura. 7- Valores sazonais do Oxigénio dissolvido (mg/L)

4.1.4 Condutividade elétrica (μS/cm)

A condutividade elétrica é caracterizada pela capacidade de propagação de um impulso elétrico em uma solução, sendo proporcional a quantidade de sais dissolvidos

(APHA, 1992). De acordo com a figura 8 a condutividade manteve-se relativamente equilibrada ao longo do rio no outono e primavera. No entanto, no período do verão, em que as temperaturas foram as mais elevadas, a condutividade elétrica mostrou-se com os maiores valores, provavelmente pelo fato da redução do caudal do rio influenciando na concentração dos sais ionizáveis [figura 8; A, B e C].



Figura. 8- Ponto 2 de Coleta; A Outono; B Primavera; C Verão

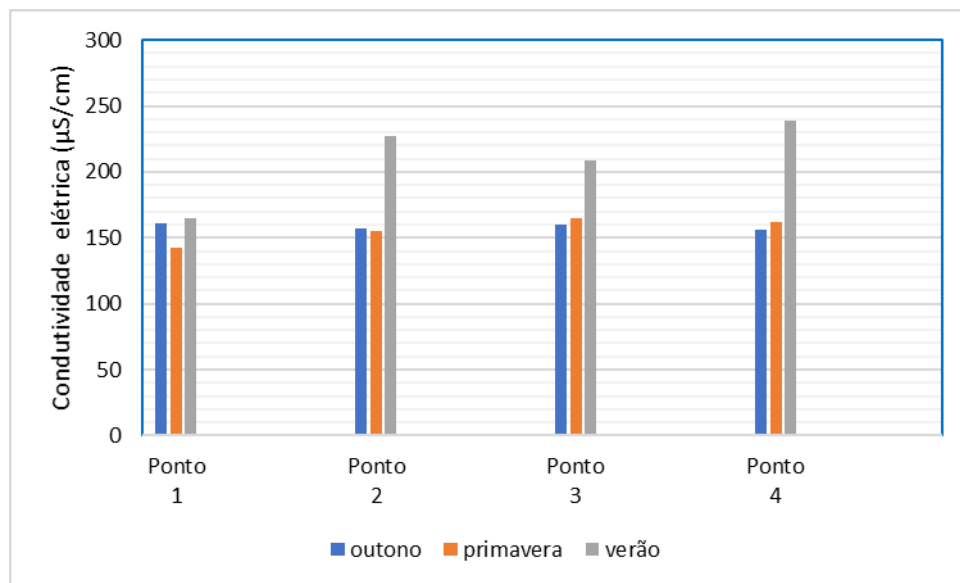


Figura. 9 - Valores sazonais da condutividade elétrica (μS/cm)

4.1.5 Sólidos dissolvidos totais (SDT)

Segundo Cortes *et al.* (1997), a transparência da água depende do teor de sólidos (suspensos e dissolvidos), sendo um parâmetro que provoca alterações biológicas importantes, causando interferências, pois reduz a luminosidade e perturba a produtividade primária.

De acordo com a figura 10, as estações outono, primavera não apresentaram nenhuma variância significativa ao longo do rio. Contudo no verão pode-se observar um aumento considerável de SDT, com exceção do primeiro ponto. Essa variação pode estar relacionada com de descargas de efluentes urbanos e industriais proveniente de ETARs. Esta diferença entre o primeiro ponto de amostragem com os pontos subsequentes pode estar relacionada com uma maior concentração de estações de tratamento mais a jusante do rio [figura 3], ou seja, o ponto não sofreu tanto impacto quanto os outros pontos.

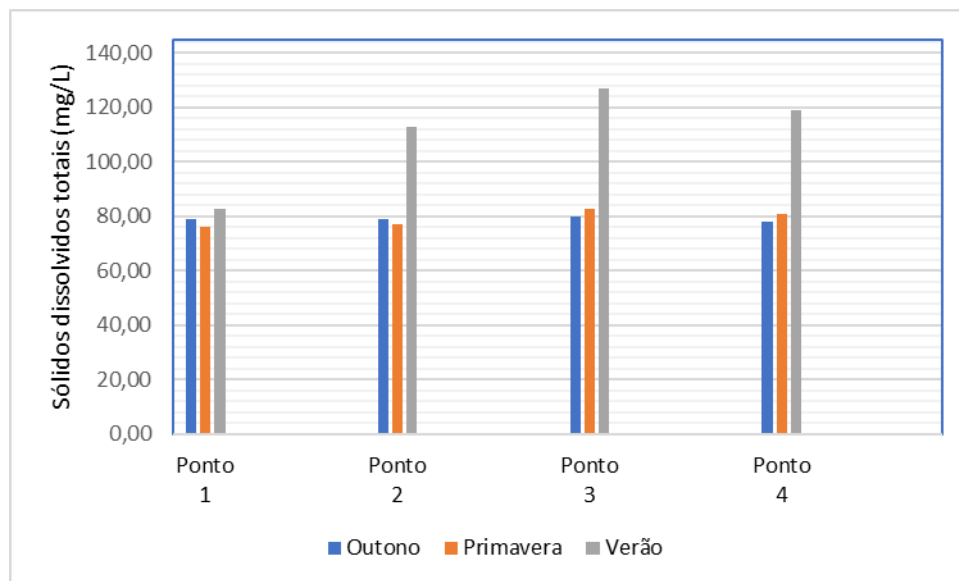


Figura. 10- Valores sazonais dos sólidos dissolvidos totais (mg/L)

4.1.6 Sólidos suspensos (mg/L)

A turbidez da água é caracterizada pela intensidade de luz que atravessa a coluna de água. Essa intensidade varia de acordo com a absorção e espalhamento na água, uma vez que partículas suspensas presentes no meio (partículas inorgânicas, detritos, areia, etc.) provocam turbidez. Esse aumento das partículas no meio pode ser provocado por diversos fatores, tais como erosão nas margens dos rios em estações chuvosas.

Na figura 11, é possível observar que o Outono foi o período com maior concentração de sólidos suspensos da água, podendo estar associado com o elevado índice de precipitação no período (IPMA, 2015) e consequentemente elevando o caudal do rio.

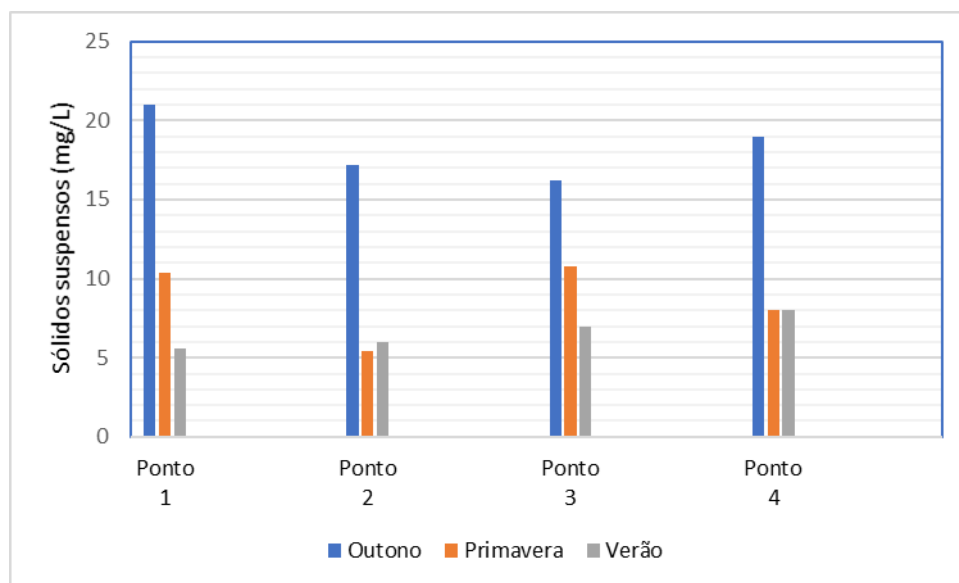


Figura 11- Valores sazonais dos sólidos suspensos (mg/L)

4.1.7 Carência bioquímica de Oxigénio (mg/L)

A carência bioquímica de oxigénio (CBO_5) é a quantidade de oxigénio consumido durante a decomposição das substâncias presente em uma amostra de água, a 20° C em um período de cinco dias (WETZEL, 1993). Dessa maneira, altas concentrações de matéria orgânica na água leva a diminuição drástica da oxigenação, em situações extremas leva a situações de anaerobiose, em que afeta diretamente a fauna microfitobentônica.

De acordo com a figura 12, é possível observar os valores de CBO_5 para as estações de primavera e verão, visto que durante o período do outono não foi possível avaliar a CBO_5 por problemas técnicos, no entanto seria esperado nesta estação que os valores fossem equiparados aos da primavera (XIAO-LONG *et al.*, 2007).

A elevada taxa de CBO_5 na primavera, em comparação ao verão, pode estar associado a uma descarga massiva de poluente 2 semanas antes. Apesar dos valores de primavera apresentarem um ligeiro aumento em comparação ao verão, ambos se encontram dentro dos limites das águas superficiais, sendo caracterizadas como excelentes e boa segundo a tabela de classificação dos cursos de água superficiais, de acordo com as características de qualidade para usos múltiplos, normalizada pelo INAG (2004).

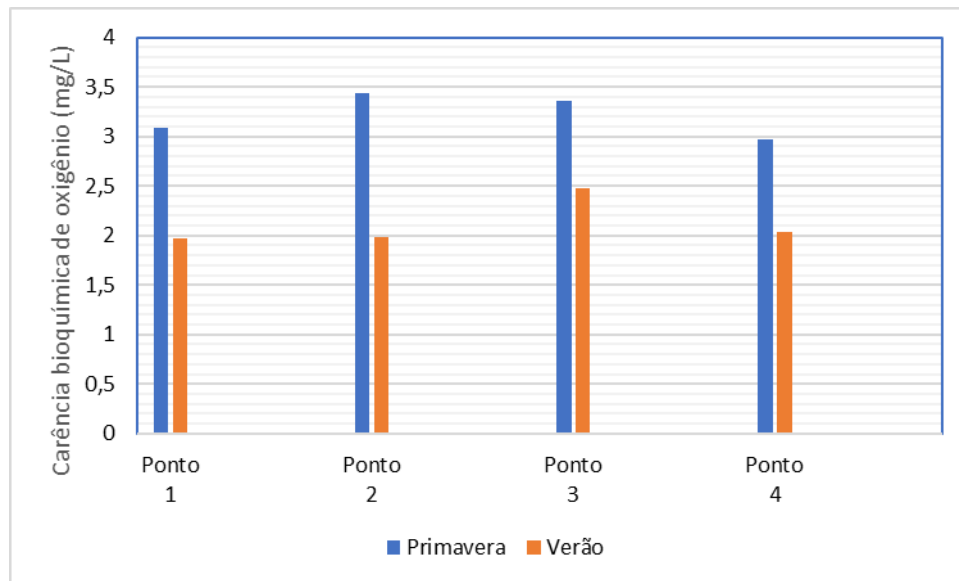


Figura. 12- Valores sazonais da carência bioquímicos de oxigênio (mg/L)

4.1.8 Carência Química de oxigênio (mg/L)

A Carencia Química de Oxigênio (CQO) é caracterizado pela quantidade total de oxigênio necessária para oxidar toda a matéria orgânica, biodegradável ou inerte. Entretanto, a oxidação da matéria orgânica ocorre por meio de um oxidante químico. Altas concentrações de CQO na água evidencia uma alta concentração de matéria orgânica na água, levando uma diminuição do oxigênio dissolvido (OD). Uma diminuição do OD pode levar a condições anaeróbicas no curso fluvial, trazendo prejuízos significativos para o ecossistema local.

De acordo com a figura 13 é possível observar que os valores apresentaram um aumento a jusante do rio. Onde a primavera apresentou os menores valores observados (8,33 mg. L⁻¹).

Levando em consideração a tabela de classificação dos cursos de água de superfície de acordo com suas características de qualidade para múltiplos usos, padronizados pelo INAG (2004), (Anexo I), a maioria dos valores encontram-se dentro dos limites de razoabilidade ao longo das estações. E má qualidade nos pontos 2 do outono e 3 e 4 do verão. Enquanto que na primavera os pontos 1 e 2 apresentaram valores excelentes da qualidade da água.

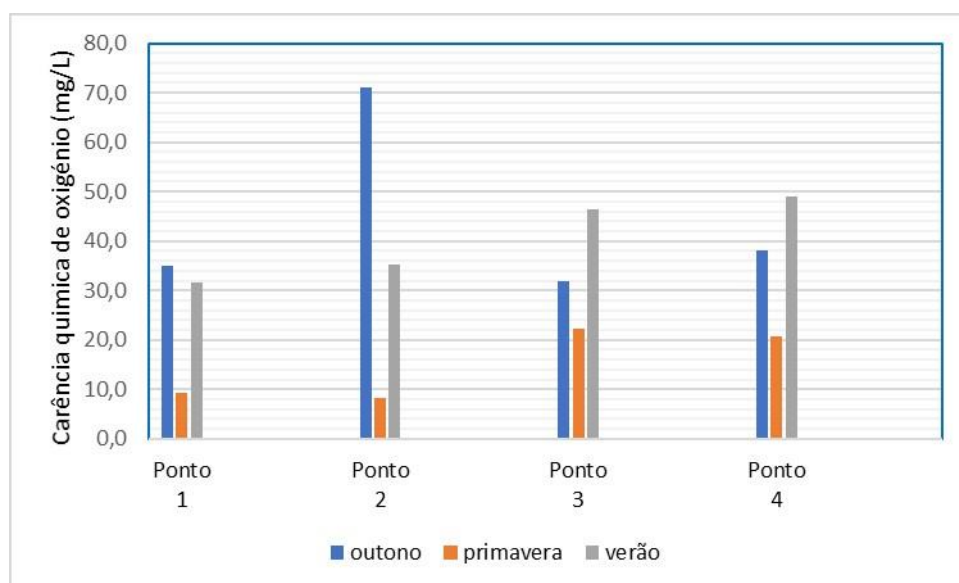


Figura 13- Valores sazonais e espaciais da carência química de oxigênio

4.1.9 Fosfatos (mg/L)

O fósforo desempenha um papel fundamental na estrutura e qualidade ecológica do ecossistema, e no metabolismo dos microrganismos. Embora ocorra em baixas percentagens em relação ao N (relação N:P é 16:1), geralmente ele é o principal limitante da produtividade primária em águas continentais. Ele também é considerado o elemento responsável pela eutrofização artificial (Schindler, 1977; Wetzel, 1993).

O fósforo pode ser encontrado na natureza em diferentes formas oxidativas: Ortofosfato (H_3PO_4), Pirofosfato ($\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$) e Fosfato (PO_4^{3-}). O aumento da quantidade de fosfato na água pode levar a perda da clareza da água, aumento de *blooms* algais, levando a diminuição da diversidade (JEPPESEN *et al.*, 2000), além de estabelecer relações com as concentrações de Chl *a* (SØNDERGAARD *et al.*, 2013).

De acordo com a figura 14, os valores encontrados para os pontos do rio Sousa variaram de 0,22 mg (Ponto 4 no Outono) e 3,75 mg/L (Ponto 3 no Verão). Ao longo dos pontos de recolha verifica-se 3 picos em cada estação do ano, entre os pontos 2 e 3. Os pontos onde ocorreram as maiores concentrações de fosfato estão situados próximos a plantações de milho. A agricultura nestes locais pode estar influenciando diretamente a disponibilidade de fósforo na água. Ou seja, esses valores podem estar relacionados com a percolação de fertilizante após a sementeira, que ocorre no período da primavera (ANPROMIS, 2017), e atingindo o curso fluvial no período seguinte.

De acordo com a tabela fornecida pelo Sistema Nacional de Informação e Recursos Hídricos (Snirh) (Anexo I) os valores obtidos do fosfato no presente trabalho encontram-se dentro dos valores de “cursos de água poluída e extremamente poluída”.

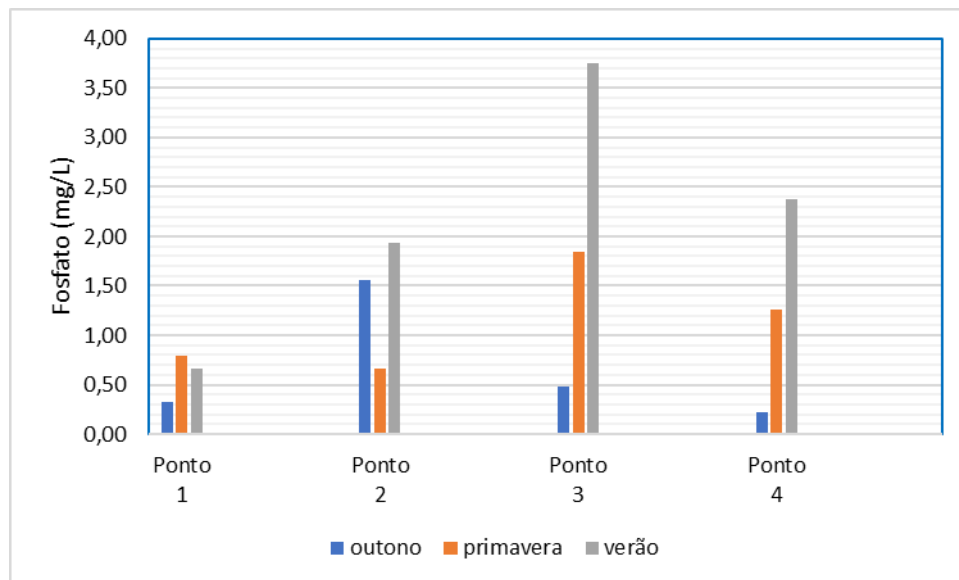


Figura. 14- Valores sazonais do fosfato (P2O5) (mg/L)

4.1.10 Nitrato (mg/L)

O nitrato é um dos compostos fundamentais para a estruturação de um ecossistema, fundamental para o desenvolvimento de microalgas, juntamente com o fosfato (CORTES *et al.*, 1992).

Em cursos fluviais naturais não poluídos a concentração de nitrato varia de 1 a 15 mg/L (NISBET & VERNEAUX, 1970). O nitrato, apesar de não possuir um efeito tóxico direto ao ambiente, pode torna-se tóxico durante o seu processo de transformação em nitrito (RODIER, 1984).

De acordo com os valores obtidos e apresentados na figura 15 os valores de nitrato variaram de 14,62 a 27,02 mg/L. Os mais elevados valores foram obtidos no Outono e Primavera ocorrendo um decréscimo na primavera. Essa variação do nitrato pode ser explicada pela intensa atividade agrícola no local, por meio da utilização de fertilizantes, próximo aos locais de amostragem, ocorrendo por meio da lixiviação.

A classificação do curso de água superficiais, de acordo com a tabela de classificação dos cursos de água superficial normalizada pelo INAG (2004), os valores de concentração de nitrato nos locais de amostragem encontram-se dentro dos valores de classificação para água de boa qualidade, com exceção do primeiro ponto (Outono) e segundo (verão), que correspondem a cursos de água com qualidade razoável.

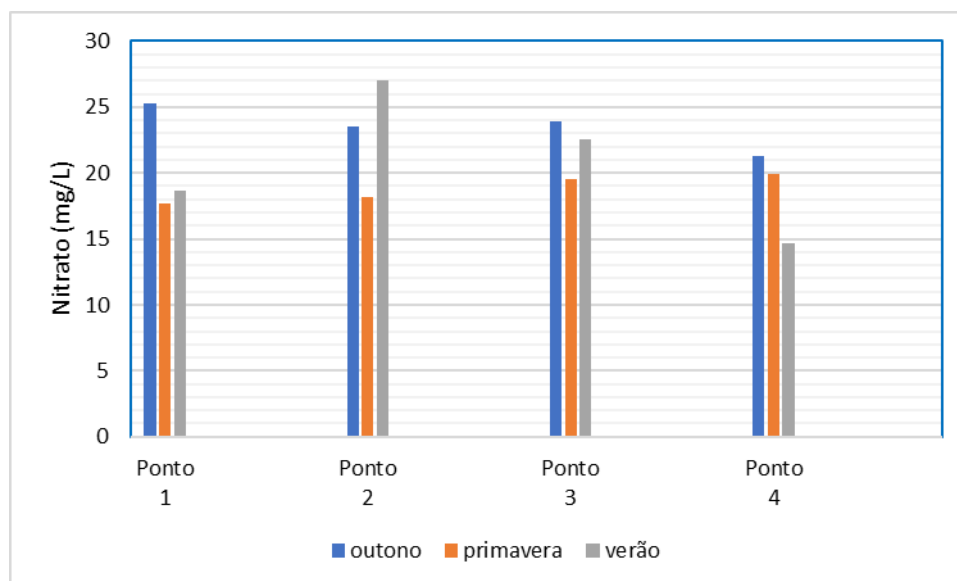


Figura. 15- Valores sazonais de nitrato (mg/L)

4.1.11 Nitritos (mg/L)

A formação do nitrito ocorre por meio da redução da amônia (desnitrificação incompleta) (RODIER, 1984). Apesar de estimular o crescimento da comunidade de microalgas esse composto é extremamente tóxico para a maioria da fauna aquática (CORTES *et al.*, 1992). Em ambientes naturais a concentração dos nitritos é extremamente baixa (NISBET & VERNEAUX, 1970).

Os níveis de nitrito foram variáveis ao longo dos pontos de coleta e das estações do ano abrangente valores entre 0,03 (Ponto 4 na primavera) a 1,25 mg/L (Ponto 2 no Verão). Os baixos valores na primavera podem estar relacionados com o efeito de diluição provocado por precipitações comuns nesta temporada. Os maiores valores foram observados no verão, onde ocorreu a redução do caudal tornando o composto mais concentrado.

De acordo com a tabela de classificação dos cursos de água superficiais, tendo em conta a características da qualidade da água normalizada pelo INAG (2004), os valores de concentração de nitritos nos locais de amostragem encontram-se fora dos valores de classificação para água de boa qualidade, estando enquadrados na classe de má e muito má, com exceção do terceiro e quarto ponto da primavera e quarto ponto do verão, que correspondem a cursos de água com boa qualidade.

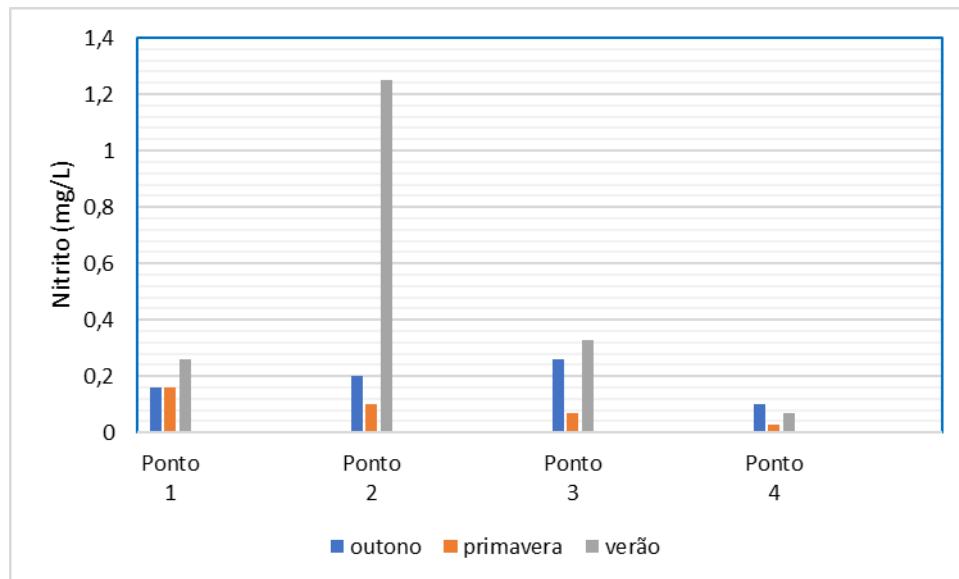


Figura. 16- Valores sazonais de nitrato (mg/L)

4.1.12 Azoto amoniacal (mg/L)

O azoto (N) e o fósforo (P) são os principais componentes para a estruturação de um ecossistema. O aumento nas taxas de ambos leva a desestruturação do ecossistema, levando a degradação da qualidade da água (WILLIAMS *et al.*, 2001). Muito se discute sobre a disponibilidade do N na água, podendo ser por decomposição de matéria orgânica ou fixação do N atmosférico por cianofíceas (Cortes *et al.*, 1992). A sua quantificação é um fator de fundamental importância para avaliar a degradação do habitat.

Pela análise da figura 17 é possível verificar que os valores variaram de 0,27 (Ponto 4 no Verão) a 1,5 mg/L (Ponto 2 no Outono). Apesar de uma pequena variação no mês do outono todos os valores estão dentro dos padrões exigidos pela DQA, sendo classificadas como boa e excelentes para todos os pontos de análise, de acordo com a tabela de classificação dos cursos de água superficiais normalizada pelo INAG (2004).

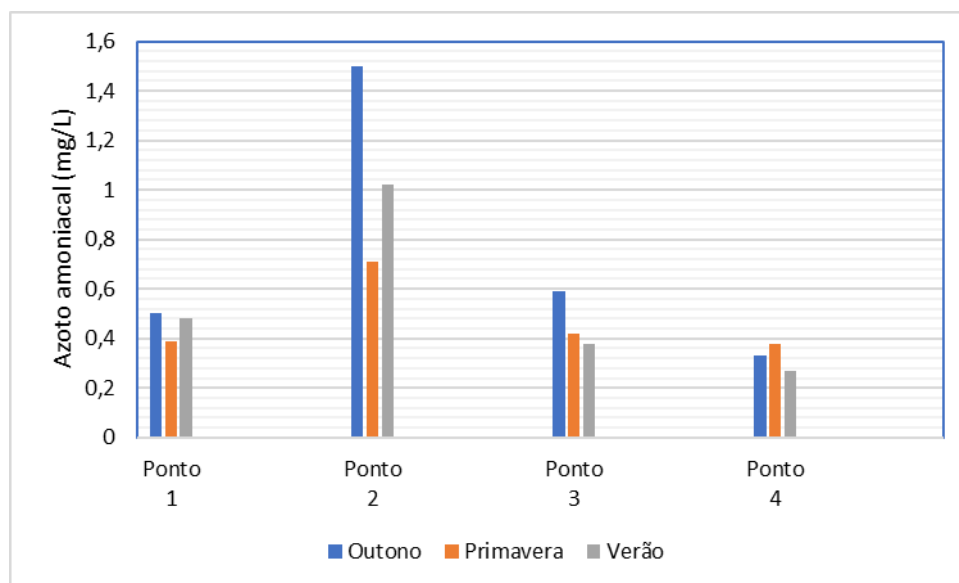


Figura. 17- Valores sazonais de azoto amoniacal (mg/L)

4.2 Parâmetros biológicos

4.2.1 Composição microfitobentônica

Os microfitobentos identificados no rio Sousa pertenceram a 107 *taxa* de 9 divisões (Bacillariophyta, Euglenozoa, Chlorophyta, Myxozoa, Charophyta, Cryptophyta, Cyanobacteria, Rhodophyta, Ochrophyta) [figura 18] e 76 famílias. Onde o grupo de maior representatividade foi o Bacillariophyta com 54 % de todos os géneros identificados. As ordens com maior abundância dentro de sua divisão foram Naviculales, Cybellales, Melosirales, Fragilariales (10, 5, 1 e 1 famílias, respectivamente). Seguindo do grupo Chlorophyta, correspondendo 19,3 % de todos os géneros identificados. As ordens com maior abundância dentro de sua visão foram inseridas em sua maioria na ordem Sphaeropleales, Chaetophorales, Chlamydomonadales (5, 1 e 3 famílias, respectivamente) [Apêndice II].

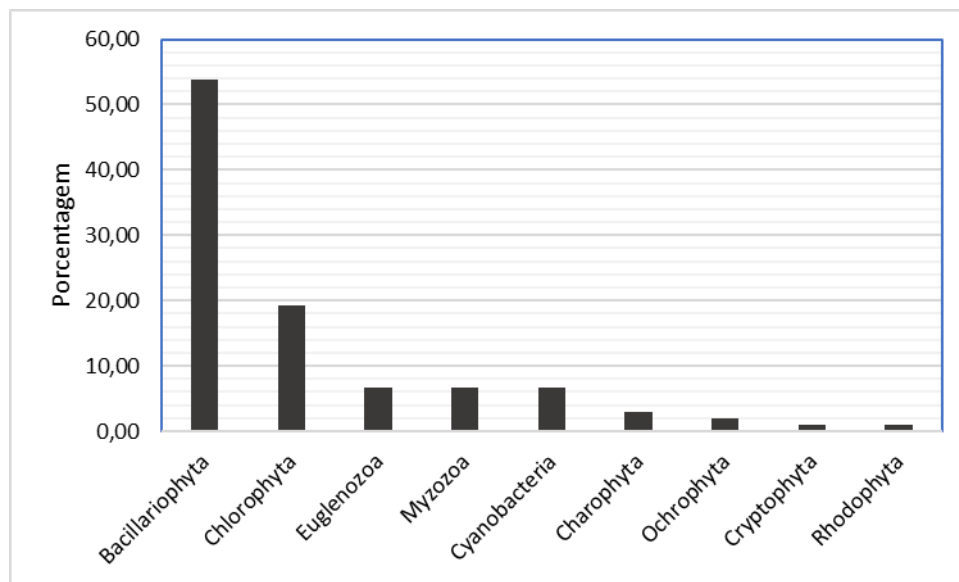


Figura. 18- Percentual de taxa presente ao longo dos quatro pontos de amostragem

Tabela. 5- Lista de taxa por grupo funcional no Rio Sousa, Portugal, 2017

Taxa	Grupo taxonômico	Grupo funcional
<i>Achnanthes</i> sp.	Bacillariophyceae	T _B
<i>Amphipleura</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Amphora</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	Chlorophyceae	X1
<i>Brachysira</i> sp.	Bacillariophyceae	A
<i>Chlamydomonas</i> sp.	Chlorophyceae	X2
<i>Chlorella</i> sp.	Trebouxiophyceae	X1
<i>Closterium</i> sp.	Conjugatophyceae	P
<i>Cocconeis</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Coelastrum</i> sp.	Chlorophyceae	J
<i>Cosmarium</i> sp.	Conjugatophyceae	P
<i>Cosmioneis</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Crucigenia</i> sp.	Trebouxiophyceae	J

<i>Cryptomonas</i> sp.	Cryptophyceae	Y
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	Mediophyceae	C
<i>Cymbella</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Diatoma</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Encyonema silesiacum</i>	Bacillariophyceae	D
<i>Epithemia</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Euglena</i> sp.	Euglenophyceae	W1
<i>Fragilaria</i> sp.	Bacillariophyceae	T _B
<i>Frustulia</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Gloeotrichia echninulata</i>	Cyanophyceae	H ₂
<i>Gomphonema</i> sp.	Bacillariophyceae	T _B
<i>Kirchneriella</i> sp.	Chlorophyceae	F
<i>Lyngbya contorta</i>	Cyanophyceae	T _C
<i>Melosira</i> sp.	Coscinodiscophyceae	N
<i>Merismopedia glauca</i>	Cyanophyceae	L ₀
<i>Monoraphidium contortum</i>	Chlorophyceae	X1
<i>Navicula</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Neidium</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Nitzschia</i> sp.	Bacillariophyceae	D
<i>Nostoc</i> sp.	Cyanophyceae	S2
<i>Oocystis</i> sp.	Trebouxiophyceae	F
<i>Oscillatoria</i> sp.	Cyanophyceae	MP
<i>Pediastrum simplex</i>	Chlorophyceae	J
<i>Phacus contortum</i>	Euglenophyceae	W1
<i>Phormidium</i> sp.	Cyanophyceae	T _C
<i>Pinnularia</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Planktosphaeria gelatinosa</i>	Chlorophyceae	F
<i>Rhizosolenia</i>	Coscinodiscophyceae	A
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	Chlorophyceae	J
<i>Skeletonema</i>	Mediophyceae	D
<i>Sphaerocystis</i> sp.	Chlorophyceae	F
<i>Spirulina</i> sp.	Cyanophyceae	S2
<i>Stephanodiscus</i>	Mediophyceae	D
<i>Surirella</i> sp.	Bacillariophyceae	MP
<i>Synedra ulna</i>	Bacillariophyceae	D
<i>Tabellaria</i> sp.	Bacillariophyceae	N
<i>Thalassiosira</i> sp.	Mediophyceae	A
<i>Ulothrix</i> sp.	Ulvophyceae	MP
<i>Volvox</i> sp.	Chlorophyceae	G
<i>Westella</i> sp.	Chlorophyceae	F

4.2.2 Classificação dos grupos funcionais

Dezoito Grupos Funcionais (GF) foram classificados dos quais incluem 54 *taxa* identificadas durante o período de estudo [tabela 5]. Cinco grupos (**C**, **D**, **MP**, **N**, **Tb**), apresentaram maior frequência em todos os pontos de coletas e estações e maior número de indivíduo. Com exceção dos grupos **G**, **H2** e **L0**, **Y**, que apresentaram ocorrência apenas no primeiro ponto do outono e primeiro e segundo ponto da primavera, respectivamente.

O grupo **C** foi marcado por oscilações populacionais ao longo das estações do ano e em todos os pontos de coleta, atingindo seu pico de densidade celular entre o ponto 3 e 4.

Este GF é caracterizado por sistema altamente enriquecido. Na figura 19, é possível observar uma relação direta entre este grupo e o fosfato, que segundo a DQA, os respectivos valores indicam uma água de baixa qualidade. Nota-se que após a elevação do fosfato há um aumento logo em seguida da comunidade de organismos, visto que se trata de um componente orgânico essencial para o desenvolvimento dos MFBs.

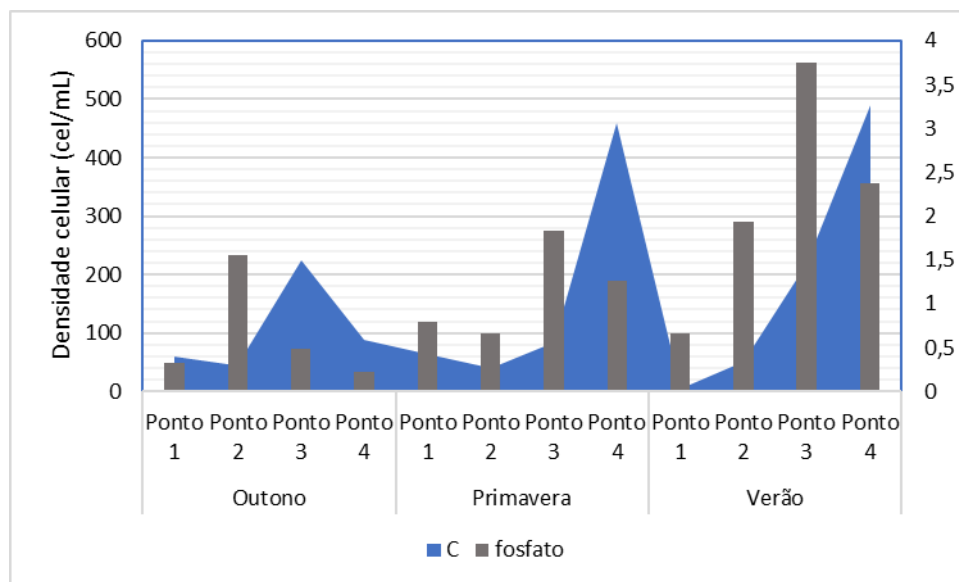


Figura. 19- Relação entre a densidade celular do GF C e do fosfato ao longo dos pontos de coleta e estações do ano

O grupo **D** tem como características águas turvas e pouco profundas. Este grupo apresentou uma variação sazonal da densidade celular, atingindo o maior valor na primavera e com o menor valor no outono. Essa característica pode estar diretamente relacionada a turbidez da água, já que é uma característica deste GF, onde os resultados dos sólidos suspensos, demonstrados na figura 11, corrobora com esta afirmação.

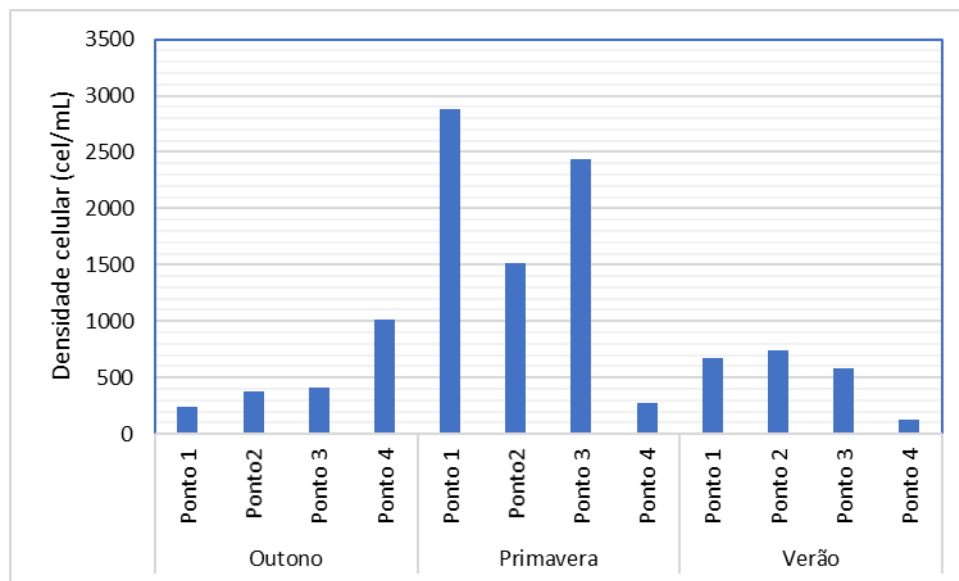


Figura. 20- Densidade celular do GF D ao longo dos pontos de coleta

O GF **MP** foi observado em todos os pontos e estações [figura 21]. Contudo com uma maior representatividade no primeiro ponto (outono) e na primavera. Padisak *et al.* (2006) caracteriza este GF como, ambiente com agitação frequente e turvos inorgânicamente, típico da caracterização hidrogeomorfológica do rio Sousa.

A variação mais expressiva foi observada na estação do outono, entretanto essa diferença pode estar relacionada com a temperatura no mesmo ponto, observando uma variação fora do padrão em comparação com os pontos de amostragem subsequente.

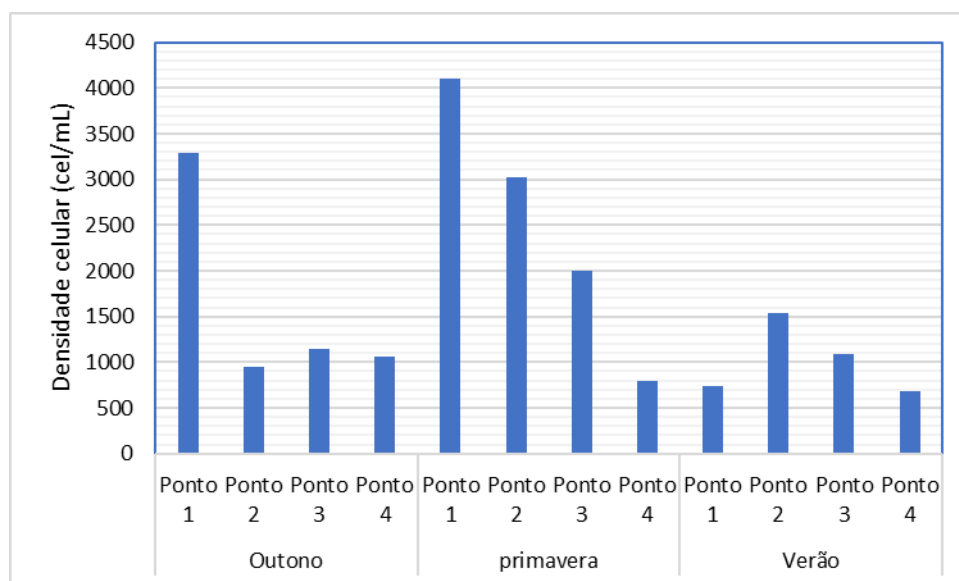


Figura. 21- Densidade celular do GF MP ao longo do rio Sousa

O GF **N** apresenta prevalência em habitats rasos, típico do rio Sousa, apresentando uma elevada presença ao longo de todo o curso fluvial. Apresentando um aumento ao longo dos pontos de coleta. Com uma maior densidade celular na primavera nos pontos 2 e 3 e uma redução drástica no ponto 4, podendo estar relacionado com uma diferença de profundidade entre os dois pontos.

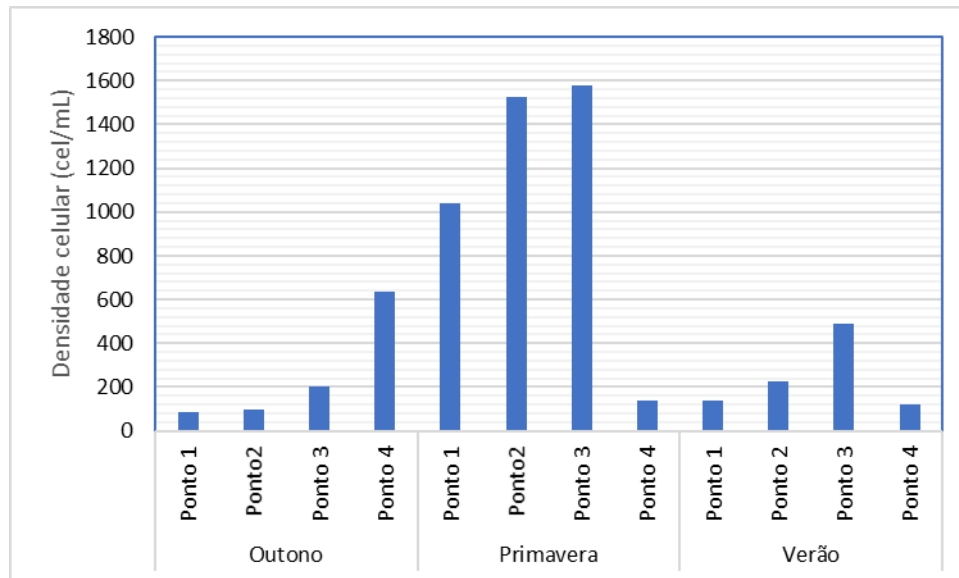


Figura. 22- Densidade celular para o GF N ao longo do rio Sousa

O GF **Tb** é típico de ambientes altamente climáticos, como córregos e rios, assim como o rio Sousa, com uma presença ao longo de todos os pontos de coleta e estações. A variação mais expressiva ocorreu durante o período da primavera, com o aumento de temperatura e disponibilidade de nutrientes.

Os grupos **G** e **H2** apresentam características semelhantes, classificadas como ambientes oligotróficos com elevada incidência luminosa e ambientes estáveis. Esses grupos, ocorreram apenas no Ponto 1 do Outono. A sua presença neste ponto poderá estar diretamente relacionada com o aumento da matéria orgânica presente na água, por meio da descarga de esgoto e baixa cobertura vegetal [figura 23], permitindo a incidência da luz até o fundo do rio.

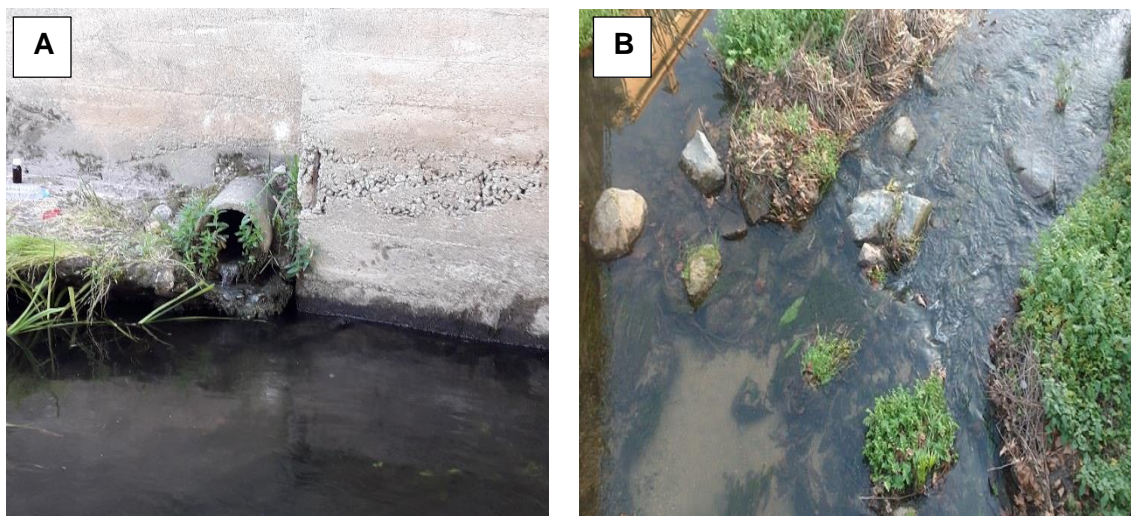


Figura. 23- [A; B]- Ponto 1 de amostragem na estação do outono; A- despejo direto de esgoto no rio, B- baixa profundidade com incidência luminosa direta no fundo do rio

O grupo **L0** é considerado por ocorrer em habitats oligo e eutróficos e **Y** são caracterizados como espécies com adaptações mais generalistas capazes de viverem em diversos ambientes. As maiores ocorrências foram observadas nos pontos 1 e 2 da primavera, respectivamente. A ocorrência do primeiro grupo pode estar associada ao acúmulo de matéria orgânica na água, proveniente de descargas de efluentes. Já o grupo **Y** por se tratar de um grupo mais generalista não apresenta uma característica que possa relacionar com o segundo ponto.

4.2.3 Chlorofila *a* vs granulometria

Os microfitobentos apresentam um alto grau de heterogeneidade espacial e temporal. Um dos principais fatores que pode determinar a abundância e composição da comunidade MFB é o tipo de substrato (CARTAXANA *et al.*, 2006). Alguns autores sugerem um maior teor de clorofila em sedimentos lamacentos comparados com a areia (RIAUX-GOBIN & BOURGOIN, 2002; PERKINS *et al.*, 2003), enquanto outros mostram níveis mais elevados de clorofila *a* associados a substratos mais arenosos (CAHOON & SAFI, 2002). No presente trabalho foi analisado a percentagem de granulometria nos meses da primavera e verão, contudo por inviabilidades logísticas não foi possível essa avaliação no outono. E foi observado que os valores da Clorofila *a* está diretamente relacionado com a granulometria do sedimento. Ou seja, de acordo com a matriz de correlação de *Pearson* os valores foram significativos. Onde a Clorofila *a* e a

granulometria apresentou um *p-value* de: 2mm: 0,0002; 1mm: 0,008; 0,5 mm: 0,04; 0,25: 0,006; 0,1mm: 0,04.

Esse resultado pode estar relacionado com a maior representatividade das Bacillariofita, visto que são organismos de hábitos bentônicos que se desenvolvem aderidos a alguns tipos de substrato (COOKSEY & WIGGLESWORTH-COOKEY, 1995).

Tabela. 6- Valores da Clorofila *a* na primavera de acordo com a percentagem da variação granulométrica

	Clorofila <i>a</i> (mg/mL)	2mm (%)	1mm (%)	500µm (%)	250µm (%)	100µm (%)	50µm (%)
Ponto 1	2,03	44,2	31,9	19,1	4,0	0,4	0,4
Ponto 2	1,62	24,8	47,2	13,6	6,9	6,3	1,2
Ponto 3	0	1,0	8,7	32,8	37,6	18,2	1,8
Ponto 4	0,44	5,5	2,0	30,3	57,0	5,0	0,1

Tabela. 7- Valores da Clorofila *a* no verão de acordo com a variação da granulometria

	Clorofila <i>a</i> (mg/mL)	2mm	1mm	500µm	250µm	100µm	50µm
Ponto 1	0,24	8,4	12,5	39,7	29,8	9,1	0,6
Ponto 2	1,75	38,3	32,2	21,9	6,4	1,0	0,2
Ponto 3	1,32	32,7	22,3	16,3	11,6	11,3	5,7
Ponto 4	1,3	23,3	25,1	36,2	13,8	1,4	0,2

4.2.4 Índice de Diversidade e Equitabilidade

A figura 23 apresenta valores de diversidade encontrados em diferentes pontos do rio Sousa em três estações (Outono, Primavera e Verão), oscilando entre 1,80 (Ponto 3 na Primavera) e 2,74 (Ponto 2 no Verão), sugerindo uma comunidade diversa. Visto que uma alta diversidade está relacionada com boas condições de integridade, uma vez que sugere uma disponibilidade de variados tipos de habitats e fontes de alimento (Barbour *et al.*, 1999). Contudo é possível observar uma redução desses valores na primavera sendo inversamente proporcional a densidade celular.

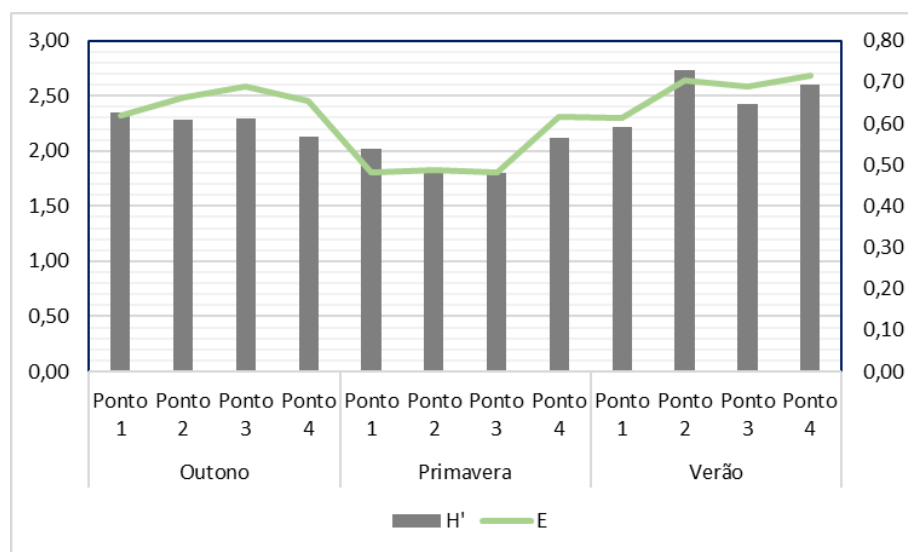


Figura. 24- Variação espaço-temporal dos valores de Índice de diversidade de Shannon-Weaver- H' (Eixo y esquerdo) e do Índice de equitabilidade de Pielou- E (Eixo y direito) da comunidade microfitobentônica

Essa variação é também observada para o índice de equitabilidade onde os valores variam de 0,48 (Ponto 1 na Primavera) e 0,72 (Ponto 4 no Verão). Em que também foi observada uma pequena redução da sua distribuição na primavera. Os valores mais elevados de equitabilidade são obtidos quando os valores da diversidade são mais elevados.

A variação temporal de ambos os índices na primavera reflecte a dominância por parte de um grupo taxonômico, nomeadamente o Grupo funcional **MP**, com característica e estratégias ambientais mais generalistas, podendo estar relacionado com diminuição do índice de diversidade, visto que na primavera foi o grupo com maior representatividade.

Apesar de uma diferença significativa, os valores encontrados de diversidade e equitabilidade expressam um “bom/Excelente” estado ecológico.

4.2.5 Presença de Microplásticos: Resultados adicionais

Durante a identificação dos *taxa* foi possível observar a presença, em quase todos os pontos de amostragem, de microplásticos (<5 μm) [figura 24]. Os microplásticos (MP) por serem partículas proveniente da degradação de plásticos maiores, têm vindo a espalhar-se nos diversos ecossistemas, marinho e água doce (GALLOWAY *et al.*, 2017; SANCHEZ *et al.*, 2014). Diversos estudos foram conduzidos, evidenciando os impactos ocasionados por essas partículas (LONNSTEDT & EKLOV, 2016; PETERS & BRATTON, 2016). Contudo pouco se sabe sobre os impactos ocasionados na MFB. Diante disso, as observações da sua presença nos bentos abrem

uma nova perspectiva de pesquisa, avaliando a relação-impacto dos MP na microfauna aquática, influenciando na sua composição e diversidade.

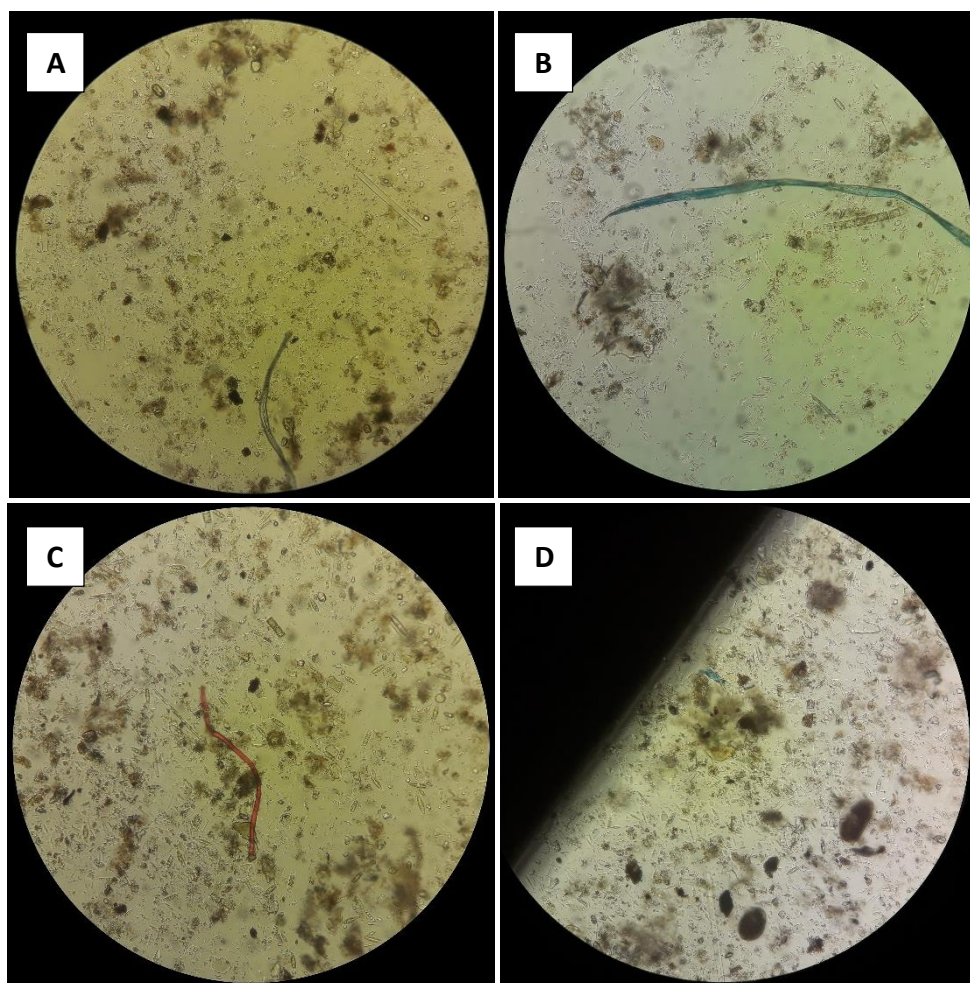


Figura. 25 Partículas de microplásticos (<5µm) em diferentes pontos de amostragem do rio Sousa. A – Ponto 1 Outono; B – Ponto 2 Primavera; Ponto 3 – Verão; Ponto 4 Verão.

4.3 Análise estatística

A análise de agrupamento/*Cluster* permitiu uma visualização de grupos similares, seguindo de uma análise multivariada dos principais parâmetros físico-químicos e biológicos e os locais de amostragem de toda a campanha (Figuras 26, 27 e 28).

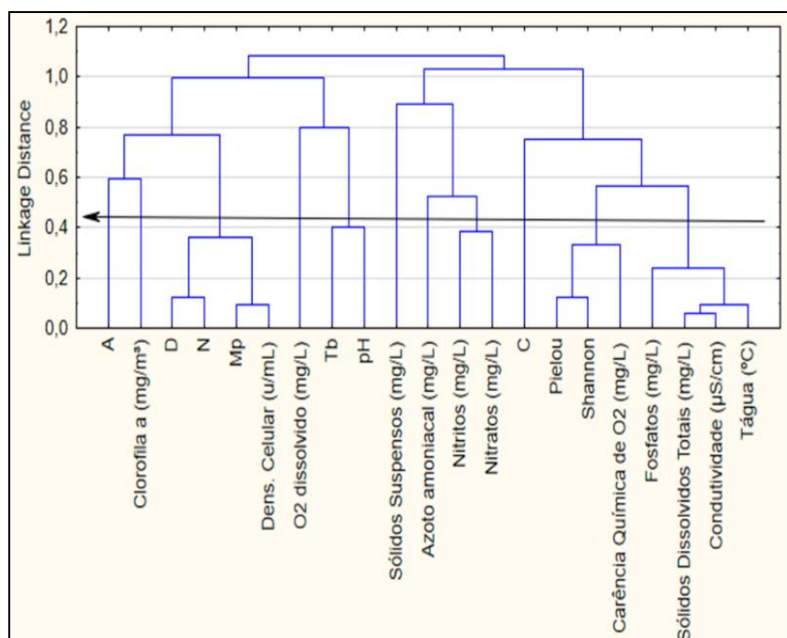


Figura 26- Diagrama de agrupamento das variáveis físico-químicas e biológicas

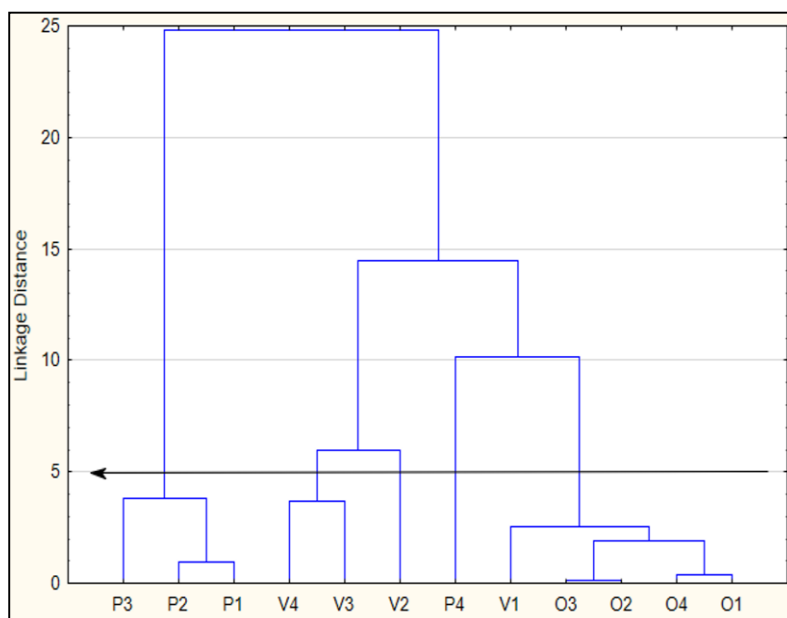


Figura 27 - Diagrama de agrupamento dos locais de amostragem e estações do ano

Nas figuras 26 e 27 está representado a análise de agrupamento/*Cluster* onde é possível, por meio da similaridade dos parâmetros analisados e os pontos da campanha,

representá-los em grupos. Essa divisão foi realizada através da distância euclidiana onde o valor que se apresentou uma maior dissimilaridade foi utilizado como ponto de agrupamento, representado respectivamente na figura 26 e 27 pelos valores de 0,45 e 5.

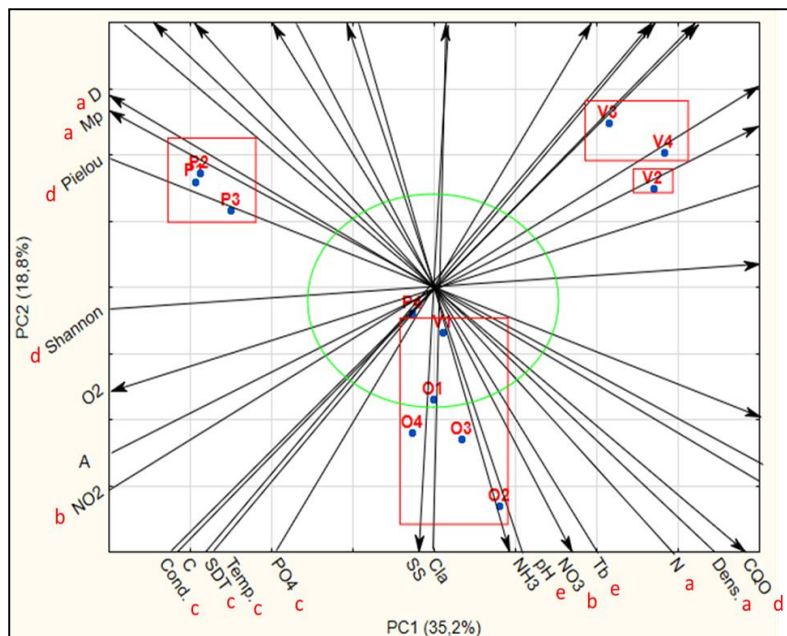


Figura 28 – Análise multivariada representada em gráfico, agrupando-os em diferentes parâmetros e pontos de amostragem para diferentes estações, do ano de acordo com suas similaridades e significâncias. Os grupos de significância que englobam os parâmetros físico-químicos e biológicos com mais de uma variável foram classificados por: “a”, “b”, “c”, “d” e “e”. PC- Plano cartesiano.

De acordo com a análise de *cluster* [figura 28], nos correspondentes eixos de ordenação, é possível avaliar uma distribuição de algumas variáveis semelhantes, observando a formação de 5 grupos com mais de um parâmetro, como o Grupo “a” (N, D, Mp, e Densidade celular), grupo “b” (NO2 e NO3), “c” (temperatura, fosfato, sólidos dissolvidos totais e a condutividade elétrica), grupo “d” (Shannon, Pielou e CQO) e grupo “e” (pH e Tb).

Neste gráfico os parâmetros pH e Tb são estatisticamente significativos, agregando-os em um mesmo grupo. Esta relação pode ser observada no trabalho de NARDELLI *et al* (2016), onde os taxa pertencente ao GF Tb foram observadas em ambientes de pH ligeiramente neutro, como observado no presente trabalho. Sua ausência no ponto 4 do outono, onde o valor do pH foi o mais baixo (figura 6), agrega as afirmações anteriores.

O grupo “a” (N, D, Mp e densidade celular), foram os que apresentaram uma maior densidade celular durante a campanha. Apresentando características pouco específicas, possibilitando uma prevalência em uma diversa gama de habitats. Desta

maneira, de acordo com a análise multivariada e de *cluster*, os respectivos GFs foram agrupados junto a densidade total da campanha com uma relação estatisticamente significativa.

Na figura 28, é possível observar uma distribuição dos GFs **Mp** e **D** próximo dos pontos de coletas 1, 2 e 3 na estação da primavera, mostrando que durante este período o aumento populacional foi influenciado principalmente por esses dois GFs. Entretanto, o índice de diversidade apresentou um crescimento ligeiramente inverso ao mesmo período, observado na figura 24, podendo estar relacionado com uma dominância dos grupos **Mp** e **D**, por meio de *blooms* de primavera (NAKAMOTO, 1975; PARK *et al.* 2017).

Para este mesmo gráfico, é possível observar que os pontos de coleta no verão se aproximaram dos parâmetros da condutividade elétrica e sólidos dissolvidos totais, enquadrados no grupo “c”. Essa relação pode ser influenciada pela diminuição do caudal no período do verão, em decorrência de baixas precipitações e altas temperaturas, levando ao acúmulo de sedimentos e sais. Segundo CORTES *et al* (1992) o aumento dos sólidos dissolvidos totais estão relacionados com o aumento da poluição orgânica, consequentemente aumento da condutividade. Um aumento considerável da condutividade pode levar a difusão na parede celular de organismos aquáticos levando a sua morte. Contudo no presente estudo todos os valores da condutividade elétrica mostraram-se dentro dos padrões da DQA (Aenxo I).

Nos demais dados, não parece haver nenhum parâmetro em particular que influenciou os resultados obtidos nos locais de amostragem. Tais como observado na matriz de correlação linear.

5. Conclusões

A elaboração deste trabalho permitiu obter algumas conclusões no que diz respeito à qualidade ecológica do rio Sousa nos concelhos de Felgueiras, Penafiel, Paredes, Gondomar.

A análise da comunidade microfitobentônica evidenciou uma grande variedade de grupos microfitobentonicos ao longo de todo o curso fluvial e em todas as estações da campanha. A caracterização da comunidade microfitobentonica como grupo funcional mostrou-se um método essencial de análise da qualidade da água, onde é possível traçar um perfil de Grupos Funcionais e suas características em relação aos parâmetros físico-químicos.

Do ponto de vista físico-químico da água, os quatro pontos amostrados ao longo do rio Sousa demonstraram influências de impactos negativos na qualidade da água para os parâmetros: carência química de O₂, fosfatos e nitritos.

Foi utilizada análise multivariada, *cluster*, componentes principais, matriz de correlação linear, que fundamentaram algumas análises gráficas e demonstraram a influência de alguns parâmetros físico-químicos em relação aos biológicos.

Por meio das análises dos GFs, verificou-se uma maior prevalência do grupo **MP** generalista e tolerantes a variação de poluentes orgânicos, além da presença de grupos característicos de ambientes eutrófico.

Apesar da observação de elevadas concentrações de nutrientes e presença de alguns grupos funcionais característicos de eutróficas os índices de diversidade e equitabilidade apresentaram valores elevados, mostraram uma estruturação do ecossistema microfitobentônico. Dessa maneira, a classificação do estado ecológico dos pontos de análise torna-se vaga. Necessitando de maiores estudos e frequência de coleta para afirmações mais precisas.

Este estudo englobou a abordagem de parâmetros físico-químicos e biológicos. Contudo, ao longo das identificações taxonómicas observou-se uma alta presença de microplásticos (< 5µm) em todos os pontos de amostragem. Essa nova perspectiva traz uma nova visão a futuros trabalhos em que é possível relacionar a presença de microplásticos a grupos taxonômicos específicos.

Os resultados deste trabalho são de extrema importância, pois poderá servir como base de futuras pesquisas envolvendo bacia hidrográfica do rio Sousa. Contudo, para que se possa caracterizar de maneira mais profunda o estado ecológico do rio Sousa, com base nos parâmetros físico-químicos e biológico, é de fundamental importância um estudo mais detalhado. Uma maior frequência e uma maior área de análise permitirá avaliar de maneira mais precisa a sua situação ecológica.

6. Bibliografia

ABELL, R.; THIEME, L.M.; REVENGA, C.; BRYER, M.; KOTTELAT, M.; BOGUTSKAYA, N.; COAD, B.; MANDRAK, N.; BALDERAS, S.C.; BUSSING, W.; STIASSNY, M.L.J.; SKELTON, P.; ALLEN, G.R.; UNMACK, P.; NASEKA, A.; REBECCA N.G.; SINDORF, N.; ROBERTSON, J.; ARMIJO, E.; HIGGINS, J.V.; HEIBEL, T.J.; WIKRAMANAYAKE, E.; OLSON, D.; LÓPEZ, H.L.; REIS, R.E.; LUNDBERG, J.G.; PÉREZ, M.H.S.; PETRY, P. Freshwater ecoregiões of the world: a new map of biogeographic units for freshwater biodiversity conservation. *Bioscience*, v. **58**, p.403–414, 2008.

ABUD, E. A.; LANI, J.L.; ARAUJO, E.A.; AMARAL, E.F.; BARDALES, N.G.; FERNANDES, E.I. Caracterização morfométrica das sub-bacias no município de Xapuri: subsídios à gestão territorial na Amazônia Ocidental. *Revista Ambiente e Água*, v. **10**, p. 431-441, 2015.

ALVES, J. M. P.; CASTRO, P. T. A. Influência de feições geológicas na morfologia da bacia do rio Tanque (MG) baseada no estudo de parâmetros morfométricos e análise de padrões de lineamentos. *Revista Brasileira de Geociências*, v. **33**, n. 2, p. 117-127, 2003.

ALVES, M. H.; BERNARDO, J.M.; FIGUEIREDO, H.D.; MARTINS, J.P.; PADUA, J.; PINTO, P.; RAFAEL, M.T. Directiva-Quadro da Água: Tipologias de Rios Segundo o Sistema A e o Sistema B em Portugal. Actas del III Congreso Ibérico sobre Gestión y Planificación del Agua. La Directiva-Marco da Água: realidades y futuros, Sevilha, 13-17 de Novembro de 2002. p.347-354.

ANDERSON, D.M.; GLIBERT, P.M.; BURKHOLDER, J.M. Harmful algal blooms and eutrophication nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, v. **25**, p.704–726, 2002.

ANDERSON, D.M.; KAORU, Y.; WHITE, A.W. Estimated Annual Economic Impacts from Harmful Algal Blooms (HABs) in the United States, Technical Report WHOI-2000-11, Woods Hole Oceanographic Institution, 2000.

ANPROMIS, Associação nacional dos produtores de milho e sorgo. Disponível em: <<http://www.anpromis.pt/o-milho.html>>. Acesso em: 22 de Set.. 2017.

ANTHROPOCENE SYNDROMES. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 2003.

APHA. Standard Methods for the examination of the water and wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C.

BAKRI, D.A., RHAMAN, S., BOWLING, L. Bowling, sources and management of urban stormwater pollution in rural catchments. *J. Hydrol.* v. **356**, p.299–311, 2008.

BARBOUR, M.T.; GERRITSEN, J.; SNYDER, B.D.; STRIBLING, J.B. Rapid Bioassessment Protocols for Use in Streams and Wadeable Rivers: Periphyton, Benthic Macroinvertebrates and Fish. (2nd ed). EPA 841-B-99-002. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, D.C., 1999.

BARTRAM, J.; CHORUS, I. eds Toxic Cyanobacteria in Water: A, 1999.

BERNARDINO, R.; RODRIGUES, S.; RAFAEL, M.T.; ALVES, M.H.; HENRIQUES, A.G. Análise comparativa da qualidade ecológica das águas superficiais tendo como

base os planos de bacia hidrográfica. Actas do II Congresso Ibérico sobre Planeamento e Gestão da Água, Porto, 9-12 de Novembro de 2000. pp. 1-14, 2000.

BOVO-SCOPARIN, V.M.; TRAIN, S. Long-term variability of the phytoplankton Community in na isolated floodplain lake of Ivinhema River State Park, *Brazil. Hydrobiologia*, v. **610**, p. 331-344, 2008.

BRUCET, S.; PEDRON, S.; MEHNER, T.; LAURIDSEN, T.L.; ARGILLIER, C.; WINFIELD, I.J.; VOLTA, P.; EMMRICH, M.; HESTHAGEN, T.; HOLMGREN, K.; BENEJAM, L.; KELLY, F.; KRAUSE, T.; PALM, A.; RASK, M.; JEPPESEN, E. Fish diversity in European lakes: Geographical factors dominate over anthropogenic pressures. *Freshwater Biology*, v.**58**, p.1779–1793, 2013.

BUTLER, D. R. 1995. Zoogeomorphology: animals as geomorphic agents, Cambridge University Press. pp.231, 1995.

CAHOON, L.B., SAFI, K.A. Distribution and biomass of benthic microalgae in Manukau Harbour, New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, v.**36**, p. 257-266, 2002.

CARMICHAEL, W.W. Algal toxins. *Adv. Bot. Res.* v.**12**, p.47-101, 1986.

CARMICHAEL, W.W. The cyanotoxins. *Adv. Bot. Res.* v.**27**, p.211-256, 1997.

CHEN, X.; ZHOU, W.; PICKETT, S.T.A.; LI, W.; HAN, L.; REN, Y. Diatoms are better indicators of urban stream condições: A case study in Beijing, China. *Ecological Indicators*, v.**60**, p.265-274, 2016.

COLIJN, F. Ligh absorption in the water of the Ems-Dollard estuary and its consequences for the growth of phytoplankton and microphytobenthos – *Neth. J. Sea Res.*, v.**15**, p.196-216, 1982.

CONSELHO NACIONAL DA ÁGUA. Articulação entre a Gestão da Água e a Conservação da Natureza e da Biodiversidade. 1ª Edição. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional, 2009.

COOKSEY, K.E.; WIGGLESWORTH-COOKEY, B. Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea: a review. *Aqua. Microbial Ecology*. v.**9**, p. 87-96, 1995.

CORRELL, D.L. The role of phosphorus in the eutrophication receiving waters: a review. *J. Environ. Qual.*, v.**27**, p.261-266, 1998.

CORTES, R. M. V.; CARVALHO, L. H. V.; CARVALHO, M. J. P. M. Caracterização físico-química das águas dulciaquícolas. Implicações biológicas. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real. Série Didáctica, *Ciências Aplicadas*, v.**15**, 1991.

COX, P.A.; BANACK, S.A.; MURCH, S.J.; RASMUSSEN, U.; TIEN, G.; BIDIGARE, R.R.; METCALF, J.S.; MORRISON, L.F.; CODD, G.A.; BERGMAN, B. Diverse taxa of cyanobacteria produce b-Nmethyramino- L-alanine, a neurotoxic amino acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, v.**102**, p.5074-507, 2005.

CZERNIAWSKA-KUSZA, I. Comparing modifield biological monitoring working party score system and several biological indices based on macroinvertebrates for water-quality assessment. *Limnologia*, v.**35**, p.169-176, 2005.

DE JONGE, V.; Van BEUSEKOM, J. Contribution of resuspended microphytobenthos to total phytoplankton in the Ems Estuary and its possible role for grazers. Netherlands *J. of Sea Res.*, v.**30**, p.91-105, 1992.

DE JONGE, V.N.; VAN BEUSEKOM, J.E.E. Wind and tide induced resuspension of sediment and microphytobenthos from tidal flats in the Ems estuary. *Limn. and Oce.*, v.**40**, p.776-778. 1995.

DE JONGE. Physical processes and dynamics of microphytobenthos in Ems estuary (The Netherlands). Ph.D. Thesis, University of Groningen: p.139-155.

DEMOTT, W.R., MOXTER, F. Foraging on cyanobacteria by copepods: responses to chemical defenses and resource abundance. *Ecology*, v.**72**, p.1820-1834, 1991.

DU, G.Y., CHUNG, I.K.; XU, H.L. Insights into community-based bioassessment of environmental quality status using microphytobenthos in estuarine intertidal ecosystems. *Acta Oceanologica Sinica*, v.35, p.112-120, 2016.

DUDGEON, D.; ARTHINGTON, A.; GESSNER, M.O.; KAWABATA, Z.; KNOWLER, D.J.; LEVEQUE, C.; NAIMAN, R.J.; PRIEUR-RICHARD, A.; SOTO, D. STIASSNY, M.L.J.; SULLIVAN, C.A. Freshwater Biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biology Review*, v.81, p.163-182, 2006.

ELOSEGI, A.; FLORES L.; DIEZ, J. The importance of local processes on river habitat characteristics: A Basque stream case study. *Limnetica*, v.**30**, p.183-196, 2011.

EUROPEAN COMMISSION. Commission Staff Working Document, Report on the progress in implementation of the Water Framework Directive Programmes of Measures. Accompanying the document: Communication from the Commission to the European Parliament and the Council. The Water Framework Directive and the Floods Directive: Actions towards the 'good' status of EU water and to reduce flood risks. COM, 120 Final, 2015.

EUROPEAN COMMISSION. Introduction to the New EU Water Framework Directive, 2016.

EUROPEAN COMMUNITIES. Common implementation strategy for the Water Framework Directive (2000/60/EC). Guidance Document No. 13, Overall Approach to the Classification of Ecological Status and Ecological Potential, 2005.

FLORES-LOPES, F.; CETRA, M.; MALABARBA, L. R. Utilização de índices ecológicos em assembleias de peixes como instrumento de avaliação da degradação ambiental em programas de monitoramento. *Biota Neotrop*, v.**10**, p.183-194, 2010.

FONSECA, B.M.; BICUDO, C.E.M. How important can the presence/ absence of macrophytes be in determining phytoplankton strategies in two tropical shallow reservoirs with different trophic status? *Journal of Plankton Research*, v.**32**, p.31-46, 2010.

FRAMING COMMITTEE OF THE GLOBAL WATER SYSTEM PROJECT. Humans transforming the global water system. *Eos AGU Trans.* v.**85**, p.513-514, 2004.

FRISSELL, C. A.; LISS, W.J.; WARREN, C.E.; HURLEY, M.D. A Hierarchical Framework for Stream Habitat Classification-Viewing Streams in a Watershed Context. *Environmental Management*, v.10, p.199-214, 1986.

GALLOWAY, T.S.; COLE, M.; LEWIS, C. Interactiões of microplastic debris throught the marine ecosystem. *Ecology & Evolution*. v. 1, 2017.

GAMMON, J.R.; SIMON, T.P. "Variation in a Great River Index of Biotic Integrity over a 20 Year Period. *Hydrobiologia*, v.422, p. 291-304, 2000.

GLEICK, P. H. Global freshwater resources: soft-path soluções for the 21st century. *Science*, v.302, p.1524-1528, 2003.

GLIWICZ, Z.M.; LAMPERT, W. Food thresholds in *Daphnia* species in the absence and presence of blue-green filaments. *Ecology*, v.7, p.691-702, 1990.

GLIWICZ, Z.M.; SIEDLAR, E. Food size limitation and algae interfering with food collection in *Daphnia*. *Arch. Hydrobiol.* v.88, p.155–177, 1980.

GOULART, M.D.C.; CALLISTO, M. Bioindicadores de qualidade de água como ferramenta em estudos de impacto ambiental. *Revista da FAPAM*, ano 2, p.153-164, 2003.

GRANT, J.; BATHMANN U. V.; MILLS, E. L. The interaction between benthic diatom films and sediment transport. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* v.23, p.225-238, 1986.

GRILLER, K. & MALMQVIST, B., 1998. The biology of streams and rivers. *Oxford University Press*, England, pp.296, 1998.

GU, M.B.; MITCHELL, R.J.; KIM, B.C. Whole-cell-based biosensors for environmental biomonitoring and application *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, v.87, p. 269-305, 2004.

HAGGARD, B.E.; STANLEY, E.H.; HYLER, R. Sediment-phosphorus relationships in three northcentral Oklahoma streams. *Trans. ASABE*, v.42, p.1709–1714, 1999.

HALLEGRAEFF, G.M. Harmful Algal Blooms. IOC UNESCO, 2000.

HARVELL, D.; ARONSON R.; BARON, N.; CONNELL, J.; DOBSON, A.; ELLNER, S.; GERBER, L.; KIM, K.; JURIS, A.; MCCALLUM, H.; LAFFERTY, K.; MCKAY, B.; PORTER, J.; PASCUAL, M.; SMITH, G.; SUTHERLAND, K., WARD, J. The rising tide of ocean diseases: unsolved problems and research priorities. *Front. Ecol. Environ.* v.2, p.375-382, 2004.

HASSALL, A.H. Memoir on the organic analysis or microscopic examination of water: supplied to the inhabitants of London and the suburban districts. *The Lancet*, v.55, p.230–235, 1850.

HEIN, B.; VIERGUTZ, C.; WYRWA, J.; KIRCHESCH, V.; SCHÖL, A. Modelling the impact of climate change on phytoplankton dynamics and the oxygen budget of the Elbe river and estuary (Germany). In: Kopmann R (ed) Lehfeldt R. Hamburg, ICHE, p.1035–1042, 2014.

HELIOS-RYBICKA, E.; HOLDA, A.; JAROSZ, E. Monitoring and Quality Assessment of Selected Physical and Chemical Parameters of the Sola River System, South Poland. *INYNIERIA OERODOWISKA*, v.10, p.45-58, 2005.

HERING, D.; BUFFAGNI, A.; MOOG, O.; SANDIN, L.; SOMMERHÄUSER, M.; STUBAUER, I.; FELD, C.; JOHNSON, R.; PINTO, P.; SKOULIKIDIS, N.; VERDONSCHOT, P.; ZAHRAĐKOVA, S. The Development of a System to Assess the Ecological Quality of Streams Based on Macroinvertebrates – Design of the Sampling Programme within the AQEM Project. *Internat. Rev. Hydrobiol.*, v.88, p.345-361, 2003.

HERING, D.; CARVALHO, L.; ARGILLIER, C.; BEKLIOGLU.; BOTJA, A.; CARDOSO, A.C.; DUEL, H.; FERREIRA, T.; GLOBEVNIK, L.; HANGANU, J.; HELLSTEN, S.; JEPPESEN, E.; KODES, V.; SOLHEIM, A.L.; NOGES, T.; ORMEROD, S.; PANAGOPOULOS, Y.; SCHMUTZ, S.; BIRK, S. Managing aquatic ecosystems and water resources under multiple stress-An introduction to the MARS project. *Science of the total Environment*, v.503, p.10–21, 2015.

HOFMANN, N.; BEAULIEU, M.S. A Geographic Profile of Manure Production in Canada. Statistics Canada, 2001.

HOLLING, C.S.; MEFFE, G.K. Command and control and the pathology of natural resource management. *Conserv. Biol.*, v.10, p.328–337, 1996.

HONG-XIAN, Y.; JUN-HUA, W.; CHENG-XUE, M.; XUE-BO, Q. Seasonal dynamics of phytoplankton functional groups and its relationship with the environment in river: a case study in northeast China, *J. of Freshwater Ecology*, v. 27, p. 429-441, 2012.

HORTON, R. E. Erosional development of streams and their drainage basins: hydrophysical approach to quantitative morphology. *Geological Society of America Bulletin*. v. 56, p. 275-370, 1945.

INAG, I.P. Plano de gestão de Região Hidrográfica, Parte 5. Região Hidrográfica do Douro RH3. Ministério do Ambiente do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P., 2008.

INAG, I.P. Tipologia de Rios em Portugal Continental no âmbito da implementação da Directiva Quadro da Água. I - Caracterização abiótica.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES. The IUCN Red List of Threatened Species 2009.

JEPPESEN, E.; JENSEN, J.P.; SØNDERGAARD, M.; LAURIDSEN, T.; LANDKILDEHUS, F. Trophic structure, species richness and biodiversity in Danish lakes. changes along a phosphorus gradient. *Freshwater Biology*, v. 45, p. 2012–2018, 2000.

JOWETT, I. Instream flow methods: a comparison of approaches. Regulated Rivers. *Research & Management*, v.13, p.115-127, 1997.

KARL, T. R.; MELILLO, J. M.; PETERSON, T.C. (eds) Global Climate Change Impacts in the United States, *Cambridge Univ. Press*, 2009.

- KERFOOT, W.C.; LEVITAN, C.; DEMOTT, W.R. *Daphnia*-phytoplankton interações: density-dependent shifts in resource quality. *Ecology*, v.**69**, p.1806-1825, 1988.
- KOH, C.; KHIM, J.S.; ARAKI, H.; YAMANISHI, H.; KOGA, K. Within-day and seasonal patterns of microphytobenthos biomass determined by co-measuremen of sediment and water column chlorophylls in the intertidal mudflat of Nanaura Sea, Ariake Sea, Japan. *Est. Coast. Shelf Sci.*, v.**72**, p.42-52, 2007.
- KRUK, C.; MAZZEO, N.; LACEROT, G.; REYNOLDS, C.S. Classification schemes of phytoplankton: selecting an ecological approach for the analysis of species temporal replacement. *J. Plankton Res.*, v.**24**, p.901-912, 2002.
- KÜHL, M.; LASSEN, C.; JØRGENSEN, B. Light penetration and light intensity in sandy marine sediments measured with irradiance and scalar irradiance fiber-optic microprobes. *Marine Ecology Progress Series*, v.**105**, p.139-148, 1994.
- LANDSBERG, J.H. The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms. *Rev. Fish. Sci.*, v.**10**, p.113-390, 2002.
- LOBO, T. B. E. L. Metodologia de Reabilitação de Aquíferos Poluídos. Tese de Doutorado. Laboratório Nacional de Engenharia Civil- LNEC, 1997.
- LONNSTEDT, O.M.; EKLOV, P. Environmentally relevant concentrações of microplastic particles influence larval fish ecology. *Science*. v.**352**, p.1213-1216, 2016.
- MADDOCK, I. The importance of physical habitat assessment for evaluating river health. *Freshwater Biology*, v.**41**, p.373-391, 1999.
- MARGALEF, R. *Limnologia. Omega*, Barcelona, 1983.
- MAULOOD, B.K.; HAMEED, A.; ALOBAIDY, J.; ALSABOONCHI, A.; ABID, H.S.; ALOBAIDY, G.S. Phytoplankton index of biological integrity (P-IBI) in Several Marshes, *Southern IRAQ.*, v.**2**, p.387-394, 2011.
- MCGRADY-STEED, J.; HARRIS, P.M. Marine Biodiversity regulates ecosystem predictability. *Nature*, v.**390**, p.162-165, 1997.
- MELO, A. S. O que ganhamos "confundindo" riqueza de espécies e equabilidade em um índice de diversidade? *Biota Neotrop*, v.**8**, p.21-27, 2008.
- MEYBECK, M. Global analysis of river systems: from Earth system controls to Anthropocene syndromes. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, v.**358**, p.1935-1955, 2003.
- MEYER, J.L.; STRAYER, D.L.; WALLACE, J.B.; EGGERT, S.L.; HELFMAN, G.S.; LEONARD, N.E. The contribution of headwater streams to biodiversity in river networks. *J. Am. Water Resour. Assoc.*, v.**43**, p.86-103, 2007.
- MINISTÉRIO DO AMBIENTE, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. *Instituto da Água*, I.P., 2008.
- MORAIS, M. Desenvolvimento de um sistema de avaliação ecológica para rios baseado nas diatomáceas bentónicas. *Recursos Hídricos*, v.**30**, p.55-63, 2009.

NAIME, R. H.; SPILKI, F. R. Preservação ambiental e o caso especial do manejo de resíduos de laboratório: conceitos gerais e aplicados. Universidade Feevale. Novo Hamburgo, Rio grande do Sul, Brasil. p.87, 2002.

NAKAMOTO, N. A freshwater red tide on a water reservoir. *J. Limnology*, v. 36, p. 55-64, 1975.

NARDELLI, M.S.; TREMARIN, P.I.; LUDWIG, T.A.V.; BUENO, N.C. Melosira (Diatomeae) taxa from the Iguaçu river in Southern Brazil. *Biota Neotropica*, v. 16, p. 2016.

NÖGES, P.; BUND, W.V.; CARDOSO, A.C.; HEISKANEN, A. Impact of climatic variability on parameters used in typology and ecological quality assessment of surface waters - Implicações on the Water Framework Directive. *Hydrobiologia*, v.584, p.373-379, 2007.

NYGAARD, G. Hydrobiological studies in some lakes and ponds. Part II. The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. Kgl. *Danske. Vidensk. Selsk. Biol. Skrifter*, v.7, p.1-293, 1949.

OLIVEIRA, J. M.; SANTOS J.M.; TEIXEIRA, A.; FERREIRA, M.T.; PINHEIRO, P.J.; GERALDES, A.; BOCHECHAS, J. Projecto Aquariport: Programa Nacional de monitorização de recursos piscícolas e de avaliação da qualidade ecológica de rios. DGRF, Lisboa, 96 pp, 2007.

OLSZEWSKI, N.; FILHO, E.I.F.; COSTA, L.M.; SCHAEFER, C.E.G.R.; SOUZA, E.; COSTA, O.D.V. Morfologia e aspectos hidrológicos da bacia hidrográfica do Rio Preto, divisa dos estados do Rio de Janeiro e de Minas Gerais. *Revista Árvore*, v.35, p.485-492, 2011.

ORDEIX, M.; CAMPRODON, J.; GUIXÉ, D. G. Metodologias de diagnóstico e avaliação do estado ecológico e da biodiversidade nos restauros fluviais. Em: *Restauro e Gestão Ecológica Fluvial - Manual de Boas Práticas de Gestão de Rios e Ribeiras*. CTFC e ISA Press, 2012.

PADISÁK J.; BORICS, G.; GRIGORSZKY, I.; PINTER-SOROCZKI, E. Use of phytoplankton assemblages for monitoring ecological status of lakes within the water framework directive: The assemblage index. *Hydrobiologia*, v. 553, p. 1-14, 2006.

PADISÁK J.; CROSSETTI, L.O.; NASELLI-FLORES, L. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, v.621, p.1–19, 2009.

PARK, Y.; PYO, J.; KWON, Y.S.; CHA, Y.; LEE, H.; KANG, T.; CHO, K.H. Evaluating physico-chemical influences on cyanobacterial blooms using hyperspectral images in inland water, Korea. *Water Research*, v. 126, p. 319-328, 2017.

PATERSON, D.M.; HAGERTHEY, S.E. Microphytobenthos in contrasting coastal ecosystems: biology and dynamics. In: Reise, K. (Ed.), *Ecological Comparisons of Sedimentary Shores*. *Ecological Studies*, v.151, p.105–125, 2001.

PETERS, C.A.; BRATTON, S.P. Urbanization is a major influence on microplastic ingestion by sunfish in the Brazos River Basin, Central Texas, USA. *Environ Pollut.* v.210, p.380-387, 2016.

POFF, N.L.; OLDEN, J.D.; MERRIT, D.M.; PEPIN, D.M. Homogenization of regional river dynamics by dams and global biodiversity implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. **104**, p.5732-5737, 2007.

RASO, S.; GENUGTEN, B.; VERMUE, M.; WIJFFELS, R.H. Effect of oxygen concentration on the growth of *Nannochloopsis* sp. At low light intensity, *J. Applied Phycology*, v. **24**, p. 863-871, 2012.

RAVEN, P. J.; HOLMES, N.T.H.; VAUGHAN, I.P.; DAWSON, F.H.; SCARLETT. Benchmarking habitat quality: observatiões using River Habitat Survey on near-natural streams and rivers in northern and western Europe. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, v.**20**, p.S13-S30, 2010.

RAWSON, D.S. Algal indicators of trophic lake types. *Limnol. Oceanogr.* v.**1**, p.18-25, 1956.

REYNOLDS, C.S. Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability. *Freshwater biology*, v. **14**, p.111-142, 1984.

REYNOLDS, C.S. Temporal scales of variability in pelagic environments and the response of phytoplankton. *Freshwater biology*, v. **23**, p. 25-53.

REYNOLDS, C.S.; HUSZAR, V.; KRUK, C.; NASELLI-FLORES, L.; MELO, S. Towards a function classification of the freshwater phytoplankton. *Jour. of Plannkton research*, v. **24**, p. 417-428, 2002.

RIAUX-GOBIN, C.; LLEWELLYN, C.A.; KLEIN, B. Microphytobenthos from two subtidal sediments from North Brittany. II. Variatiões of pigment composições and concentratiões determined by HPLC and conventional techniques. *Marine Ecology Progress Series*, v.**40**, p.275-283, 1987.

RIZZO, W. M.; LACKEY G. L.; CHRISTIAN, R. R. Significance of euphotic, subtidal sediments to oxygen and nutriente cycling in a temperate estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* v.**86**, p.51- 61, 1992.

Rodier, J. L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux residuaires, eaux de mer. Vol.I. 7ª ed. Bordas, pp.667, 1984.

ROUND, F.E. pH scaling and diatom distribution. *Diatom*, v. **20**, p. 9-12, 2004.

SALMASO N, PADISÁK J. Morpho-functional groups and phytoplankton development in two deep lakes (Lake Garda, Italy and Lake Stechlin, Germany). *Hydrobiologia*. v.**578**, p.97-112, 2007.

Sanchez, W.; Bender, C.; Porcher, J.M. Wild gudgeons (*Gobio gobio*) from French rivers are contaminated by microplastics: Preliminary study and first evidence. *Environ Res.*v.**128**, p. 98-100, 2014.

SARAIVA, F. A. O Potencial Ecológico no Âmbito da Diretiva-Quadro da Água - Conceitos e Metodologias de Definição. Dissertação de Mestrado em Engenharia e Gestão da Água. Departamento de Ciências e Engenharia do Ambiente, Faculdade de Ciências e Tecnologias da Universidade Nova de Lisboa, Lisboa, 2010.

SAWYER, C. N.; MCCARTY, P. L. & PARKIN, G. F. Chemistry for Environmental Engineering. 4º ed. New York.McGraw-Hill Book Company, pp.658, 1994.

SCHEFFER, M.; CARPENTER, S.; FOLEY, J.A.; FOLK, C.; WALKER, B. Catastrophic shifts in ecosystems. *Nature*, v.**413**, p.591-596, 2001.

SCHINDLER, D. W. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* v.**195**, p. 260–262, 1977.

SCHUMM S. A. Evolution of drainage systems and slopes in badlands of Perth Amboy. Geological Society of America Bulletin, v. **67**, p. 597-646, 1956.

SERÔDIO, J.; SILVA, J.M.; CATARINO, F. Nondestructive tracing of migratory rhythms of intertidal benthic microalgae using in vivo chlorophyll a fluorescence. *Journal of Phycology*, v.**33**, p.542-553, 1997.

SMITH, R. L. Ecology and field biology, Harper Collins, New York. pp.999, 1990.

SMITH, V.H.; SCHINDLER, D.W. Eutrophication science: where do we go from here? *Trends Ecol. Evol.*, v.**24**, p.201-207, 2008.

SOLÉ, R.V.; BASCOMPTE, J. Self-organization in Complex Ecosystems. Princeton University Press, Princeton, NJ, 2006.

SØNDERGAARD, M., R. BJERRING & E. JEPPESEN. Persistent internal phosphorus loading during summer in shallow eutrophic lakes. *Hydrobiologia*, v. **710**, p. 95–107, 2013.

STEVENSON, R.J., PAN, Y. & VAN DAM, H. Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms. The Diatoms: Applications for the Environmental and Earth Sciences (Smol, J.P. & Stoermer, E.F., editors.), p.57–85. *Cambridge University Press*, 2010.

STRAHLER, A. N. Quantitative analysis of watershed geomorphology. *Transactions of American Geophysical Union*. v. **38**, p. 913-20, 1957.

TEICHERT, N. Restoring fish ecological quality in estuaries: Implication of interactive and cumulative effects among anthropogenic stressors. *Science of the Total Environment*, v.**542**, Part A, p.383-393, 2016.

TILMAN, D.; REICH, P.B.; KNOPS, J.M.H. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature*, v.**441**, p.629-632, 2006.

UNDERWOOD, G.J.C.; KROMKAMP, J. Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Advances in Ecological Research* v.**29**, p.93-153, 1999.

USEPA, A SAB report: a framework for assessing and reporting on ecological condition. EPASAB-EPEC-02–009. US Environmental Protection Agency, Washington, DC, 2002.

VIEIRA, J. M. Gestão da Água em Portugal. Os Desafios do Plano Nacional da Água. Departamento de Engenharia Cível, Universidade do Minho, v.**16**, p.5-12, 2003.

VON SPERLING, M. Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. 3.ed. Belo Horizonte: UFMG/ Departamento de Engenharia Sanitária, v.**1**, p. 452, 2005.

VÖRÖSMARTY, C. J. in Millennium Ecosystem Assessment, v.**1**, p.165-207, 2005.

VÖRÖSMARTY, C.J.; MCINTYRE, P.B.; GESSNER, M.O.; DUDGEON, D.; PRUSEVICH, A.; GREEN, P.; GLIDDEN, S.; BUNN, S.E.; SULLIVAN, C.A.; LIERMANN, C.R.; DAVIES, P.M. Global threats to human water security and river biodiversity. *Nature*, v.**467**, p.555-561, 2010.

WETZEL, C.E.; LOBO, E.A.; OLIVEIRA, M.A.; BES, D.; HERMANY, G. Diatomáceas epilíticas relacionadas a fatores ambientais em diferentes trechos dos rios pardo e pardinho, bacia hidrográfica do rio pardo, RS, Brasil: resultados preliminares. v.**14**, p.17-38, 2002.

WETZEL, R. G. Limnologia. 2ª Edição. Fundação Calloouste Gulbenkian. Lisboa. 919 pp, 1993.

WHO, Emerging Issues in Water and Infectious Disease. World Health Organization, 2003.

WU, J.T. A generic index of diatom assemblages as bioindicator of pollution in the Keelung River of Taiwan. *Hydrobiologia*, v.**397**, p.79-87, 1999.

Xiao-long, W.; Yong-long, L.; Gui-zhen, H.; Jing-yi, H.; Tie-yu, W. Exploration of relationship between phytoplankton biomass and related environmental variables using multivariate statistic analysis in a eutrophic shallow: A 5-years study. *J. Envi. Sci.*, v. **19**, p. 920-927, 2007.

YALLOP, M.L.; WINDER, B.; PATERSON, D.M.; STAL, L.J. Comparative structure, primary production and biogenic stabilisation of cohesive and non-cohesive marine sediments inhabited by microphytobenthos. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v.**39**, p.565-582, 1994.

ZHANG, W.; JIN, X.; LIU, D.; LANG, C.; SHAN, B. Temporal and spatial variation of nitrogen and phosphorus and eutrophication assessment for a typical arid river - Fuyang River in northern China. *J. Environmental Science*, v.**55**, p.41-48, 2017.

ZIV, G.; BARAN, E.; NAM, S.; RODRIGUEZ-ITURBE, I.; LEVIN, S.A. Trading-off fish biodiversity, food security, and hydropower in the Mekong River Basin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v.**109**, p.5609-5614, 2012.

1-

PARÂMETRO:	UNIDADES:	MÉTODO DE CÁLCULO		A		B		C		D		E	
				Excelente		Boa		Razoável		Má			
		PERCENTIL	FREQUÊNCIA	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
Arsénio	mg/l As	85	3	-	0.01	-	0.05	-	-	-	-	0.1	>0.1
Azoto Kjeldahl	mg/l N	85	4	-	0.5	-	1	-	2	-	-	3	>3
Azoto amoniacal	mg/l NH4	85	8	-	0.5	-	1.5	-	2.5	-	-	4	>4
Carência bioquímica de oxigénio	mg/l O2	85	8	-	3	-	5	-	8	-	-	20	>20
Carência química de oxigénio	mg/l O2	85	8	-	10	-	20	-	40	-	-	80	>80
Chumbo	mg/l Pb	85	3	-	0.05	-	-	-	0.1	-	-	0.1	>0.1
Cianetos	mg/l CN	85	3	-	0.05	-	-	-	0.08	-	-	0.08	>0.08
Cobre	mg/l Cu	85	3	-	0.05	-	0.2	-	0.5	-	-	1	>1
Coliformes fecais	/100 ml	85	8	-	20	-	2000	-	20000	-	-	>20000	
Coliformes totais	/100 ml	85	8	-	50	-	5000	-	50000	-	-	>50000	
Condutividade	µS/cm, 20°C	85	8	-	750	-	1000	-	1500	-	-	3000	>3000
Crómio	mg/l Cr	85	3	-	0.05	-	-	-	0.08	-	-	0.08	>0.08
Cádmio	mg/l Cd	85	3	-	0.001	-	0.005	-	0.005	-	-	>0.005	
Estreptococos fecais	/100 ml	85	4	-	20	-	2000	-	20000	-	-	>20000	
Fenóis	mg/l C6H5OH	85	4	-	0.001	-	0.005	-	0.01	-	-	0.1	>0.1
Ferro	mg/l Fe	85	3	-	0.5	-	1	-	1.5	-	-	2	>2
Fosfatos P2O5	mg/l P2O5	85	8	-	0.4	-	0.54	-	0.94	-	-	1	>1
Fósforo P	mg/l P	85	8	-	0.2	-	0.25	-	0.4	-	-	0.5	>0.5
Manganês	mg/l Mn	85	3	-	0.1	-	0.25	-	0.5	-	-	1	>1
Mercúrio	mg/l Hg	85	3	-	0.0005	-	-	-	0.001	-	-	0.001	>0.001
Nitratos	mg/l NO3	85	8	-	5	-	25	-	50	-	-	80	>80
Oxidabilidade	mg/l	85	8	-	3	-	5	-	10	-	-	25	>25
Oxigénio dissolvido (sat)	% saturação de O2	85	8	90	-	-	70	-	50	-	30	-	<30
Selénio	mg/l Se	85	3	-	0.01	-	-	-	0.05	-	-	0.05	>0.05
Substâncias tensoactivas	mg/l, sulfato de lauril e sódio	85	4	-	0.2	-	-	-	0.5	-	-	0.5	>0.5
Sólidos suspensos totais	mg/l	75	8	-	25	-	30	-	40	-	-	80	>80
Zinco	mg/l Zn	85	3	-	0.3	-	1	-	3	-	-	5	>5
pH	Escala Sorensen	85	8	6.5	8.5	5.5	9	5	10	4.5	11	>11	

O pH, sendo um parâmetro muito dependente de características geomorfológicas, pode apresentar valores fora deste intervalo, sem contudo significar alterações de qualidade devidas à poluição.

Apêndice II.

Fitobentos	Abundância relativa (%)											
	Outono				Primavera				Verão			
	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4	Pt1	Pt2	Pt3	Pt4
Achnanthes sp.					0,3			0,2	0,7	0,1	0,2	0,1
Amphipleura sp.	0,2	1,1			0,0				0,1			
Amphora sp.	0,7			0,1	0,5	0,9	0,1		0,3	1,1	0,1	0,5
Anamoeoneis sp.	0,2		0,2		0,1	0,1	0,3	0,4	1,1	0,5	1,1	
Aneumastus sp.			0,2									17,7
Anisonema sp.	1,6				0,0	0,1	0,8	0,2				
Ankistrodesmus sp.	0,2	0,2	0,2	0,1	0,5	0,4	0,1			1,5	0,2	0,4
Astasia sp.		0,2			0,0				0,1			
Bacillaria sp.											0,1	1,6
Bellerochea sp.												0,1
Bodo sp.	1,0											
Botrydiopsis sp.	0,7				0,1							
Brachysira sp.					0							
Centronella sp.		2,8	0,2									
Ceratium sp.	0,6											
Ceratonei sp.					0,0							
Chlamydomonas sp.				0,3	0,2				0,2	0,1		0,1
Chlorella sp.					0,3							
Closterium sp.	0,5	1,5	0,2	0,5	0,5	0,5	0,2	0,2		0,4		0,3
Cocconeis sp.	1,2	0,4			0,2	0,1	0,1	0,4	25,6	4,6	4,0	1,5
Coelastrum sp.		0,4				0,2	0,1			0,1		
Coscinodiscus sp.		0,6	0,2	0,3	0,0	0,1	0,0					
Cosmarium sp.					0,4	0,5	0,2		0,1	0,2	0,2	2,1
Cosmioneis sp.		0,4	0,9		6,4	24,3	8,8	18,5		7,4	6,2	1,5
Crucigenia sp.	0,1											
Cryptomonas sp.						0,1						
Cyclotella spp.	1,2	2,4	10,5	2,9	0,7	0,6	1,2	22,7	0,2	1,5	8,2	21,0
Cymatopleura sp.	0,3											
Cymbella sp.	1,2	1,7	3,8	6,0	0,2	0,5	0,6	1,8	0,2	15,0	8,3	7,7
Cymboppleura sp.							0,8	2,6	1,5	2,5	0,7	0,2
Cystodinium sp.					0,0	0,1						1,0
Diatoma sp.	4,1		0,4	0,5	0,4		0,3		0,7			
Dinobryon sp.												
Diploneis sp.	0,5				0,0	0,7	2,5	3,6	2,4			
Ditylimum sp.				0,1								
Encyonema sp.			0,2						0,1	0,1		
Entosiphon sp.					0,0		0,1					
Epithemia sp.					0,0							

[illegible]

Pseudonitzschia sp.												0,1
Pyrocystis lunula				0,1								
Rhizosolenia sp.	2,5											
Rhoicosphenia sp.				0,9	0,2	0,1	0,1	0,6	0,8	0,2	0,1	0,1
Scenedesmus sp.	0,9	1,1	0,2	0,3		0,7	0,6	0,4	0,5	1,8	1,4	3,5
Selenastrum sp.										1,0		
Sellaphora sp.										0,1		
Skeletonema sp.	0,3											
Sphaerocystis sp.	0,9					0,1						
Spirulina sp.	0,3	0,4	0,4		0,3	0,4	0,2			0,6	0,2	
Stauroneis sp.	0,7	3,6	0,4	0,4	1,0	0,6		0,8	0,8	0,1		
Staurosirella sp.					0,0							
Stellarina sp.							0,1					
Stephanodiscus sp.					0,0							
Surirella sp	3,6		2,3	3,1	6,0	1,3	1,2	1,4	0,1	0,1	0,7	0,8
Synedra sp.	1,6	16,1	13,1	30,6	28,5	21,3	33,2	12,4	34,3	22,1	21,1	5,1
Tabellaria sp.					0,0	0,1			0,1	0,1		
Tetraedriella sp.	0,1											
Thalassiosira sp.		2,4	3,0	2,4	0,7	0,4	0,2		0,2	5,2	2,0	6,4
Trentepohlia sp.					0,1							
Triceratium sp.					0,1		0,1	0,2		0,6	0,4	0,4
Ulothrix sp.					0,9							
Volvox sp.	1,0											
Westella sp.						0,1	0,1	0,2		0,1		